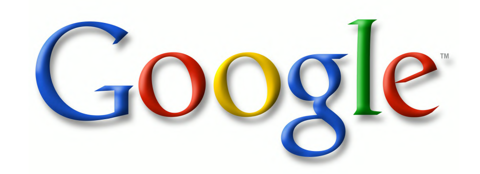
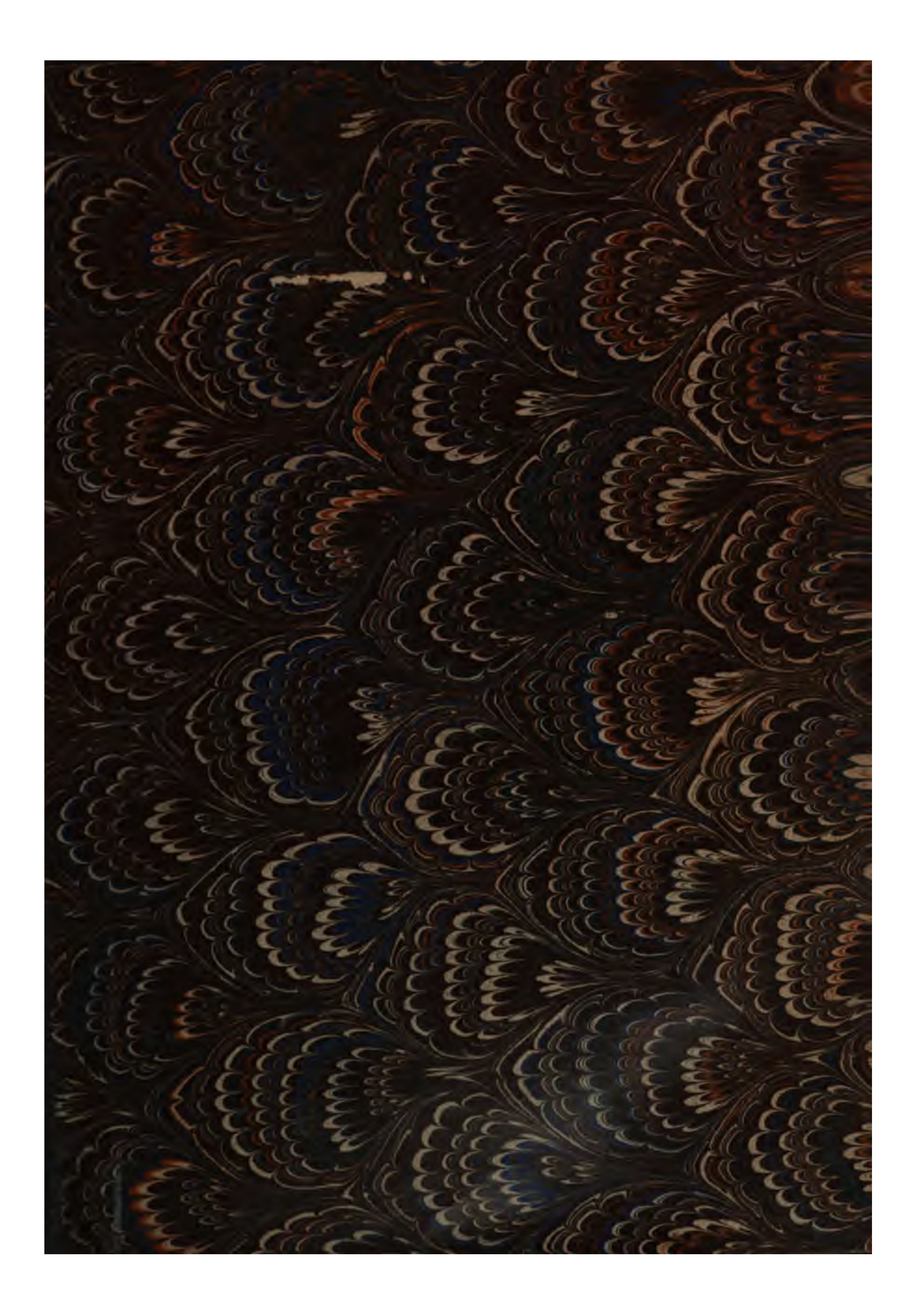



LANE MEDICAL LIBRARY STANFORD
G05 .H88 1886 STOR
Die Methoden der Bakterien-Forschung. / v
24503393384


LANE
MEDICAL
LIBRARY
The Hoisholt
Psychiatric Library



Berlin
1886.

DIE METHODEN

DER

BAKTERIEN-FORSCHUNG

VON

DR. FERDINAND HUEPPE,
Docent der Hygiene und Bakteriologie am chemischen Laboratorium von R. Fresenius
zu Wiesbaden.

Dritte vermehrte und verbesserte Auflage.

MIT 2 TAFELN IN FARBENDRUCK UND 40 HOLZSCHNITTEN.

WIESBADEN.
C. W. KREIDEL'S VERLAG.
1886.

Druck von Carl Ritter in Wiesbaden.

HERRN

GEHEIMEN MED.-RATH UND PROFESSOR DER HYGIENE

DR. ROBERT KOCH

IN

DANKBARER VEREHRUNG

GEWIDMET.

Vorwort zur 1. und 2. Auflage.

Dem Mangel einer zusammenfassenden Darstellung über die Methoden der Bakterien-Forschung habe ich, mitbestimmt durch die Wünsche meines hochverehrten Lehrers, Herrn Geheimrath Koch, im vorliegenden Werke zu begegnen versucht. Bei der ausserordentlich zerstreuten, zum Theil nur schwer zugänglichen Litteratur war es mein Bestreben an der Hand historischer und experimenteller Kritik das ganze Material zu sichten, das Gute aller Bestrebungen aus dem kaum noch übersehbaren Gewirre von brauchbaren und unbrauchbaren Mittheilungen herauszuarbeiten, um dem selbstständigen Forscher ein brauchbares Handbuch, dem Anfänger eine zuverlässige Einführung in das Gebiet geben zu können.

Wiesbaden, Februar 1885.

Der Verfasser.

Vorwort zur 3. Auflage.

Die methodische Forschung ist in der Bakteriologie in hohem Grade abhängig von Fortschritten der Technik. Auf der anderen Seite ist aber die technische Seite der Forschung nur ein Ausfluss der correcten methodischen Fragestellung. Jede richtig gestellte Frage hat die technische Seite der Methodik gefördert, jeder Fortschritt der Technik gestattete andere Fragen in Angriff zu nehmen. Beide Seiten der methodischen Forschung sind nicht zu trennen, wenn für Forschung und Lehre Erspriessliches geleistet werden soll.

Oft ist ein methodischer Fortschritt schwerwiegendster Art nur dadurch möglich geworden, dass man an alte, fast in Vergessenheit

gerathene Methoden anknüpfte, und eine derart entwickelte Methode empfing ihre wesentlichsten Erweiterungen und Verbesserungen bisweilen nur dadurch, dass man sie mit Methoden combinirte, welche einen ganz anderen Ursprung hatten. Es giebt keine wirklich universelle Methode; jede Methode hat ihre Schwächen und Grenzen, die dadurch nicht beseitigt werden, dass andere Methoden vielleicht noch mangelhafter sind. Eine für einen bestimmten Zweck zur Zeit beste Methode kann zur Lösung anderer Fragen vollständig im Stiche lassen.

Aus diesem Grunde hatte ich schon in der 1. Auflage versucht nicht nur die Lieblingsmethoden einer bestimmten Schule, sondern alle Methoden zu berücksichtigen. Bei diesem ersten Versuche waren Ungleichmässigkeiten schwer zu vermeiden und ich war mir dieses Mangels vollständig bewusst. Aber meiner Neigung zur synthetischen Kritik folgend war ich bemüht an der 1. Auflage selbst schäfere Kritik zu üben als sie das Werk bisher von irgend einer Seite erfahren hat. Ich hoffe auf Grund eingehender Untersuchungen derartige Ungleichmässigkeiten mehr und mehr beseitigt zu haben und war bemüht die Technik der einzelnen Methoden aus der Entwicklung der Fragestellung herzuleiten und auf der anderen Seite zu zeigen wie der jeweilige Stand der Technik seinerseits der Lösung der Fragen ein Ziel setzt und Grenzen der Methoden bedingt.

Auf diese Weise hoffe ich in der vorliegenden, noch im Erscheinungsjahre der 1. Auflage nöthig gewordenen 3. Auflage mein Versprechen am besten zu halten, das Werk für Lehre und Studium gleich zuverlässig zu gestalten.

Eine französische Bearbeitung nach der 3. Auflage durch Herrn Professor Dr. van Ermengem wird in Kürze in Paris zur Ausgabe gelangen.

Wiesbaden, November 1885.

Der Verfasser.

Inhaltsverzeichniss.

Einleitung.

Die Ausbildung besonderer Methoden zum Studium der Bakterien wurde bedingt einerseits durch die Kleinheit und schnelle Vermehrung dieser niederen Organismen, bei denen die sonst in der Morphologie bewährten Methoden fast ganz im Stiche liessen, und andererseits durch die biologischen Prozesse, bei welchen sich diese Mikroorganismen betheiligen und denen auch die Methodik Rechnung zu tragen gezwungen wurde.

In Hinsicht auf die Biologie lassen sich die Bakterien in zwei grosse Gruppen trennen: die Saprophyten, welche sich von todten organischen Körpern nähren, und die Parasiten, welche lebende Organismen befallen.

Unter den Saprophyten scheidet man meist die eigentlichen Fäulnissbakterien von denjenigen, welche eine mehr typische Zersetzung der nicht lebenden organischen Materie bewirken, sodass selbst eine technische Gewinnung der gebildeten Produkte ermöglicht wird. Diese letzteren Saprophyten bezeichnet man als Gährungs- oder Fermentbakterien. Ausserdem machen sich unter den Saprophyten noch die Pigmentbakterien besonders bemerkbar.

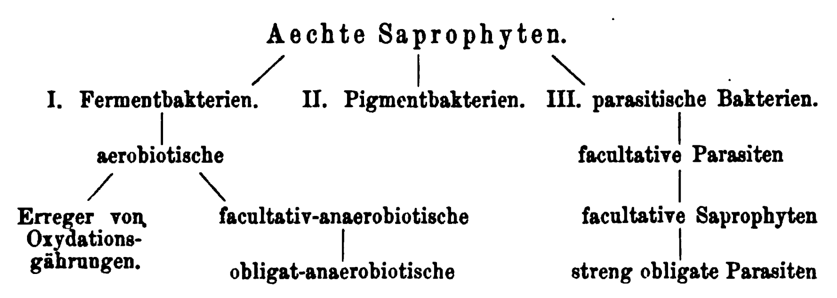
Viele dieser Saprophyten bedürfen des Luftsauerstoffs zum Leben und Wirken unter allen Umständen: aerobiotische. Manche Arten können denselben zeitweilig entbehren und sollen gerade dann befähigt sein die specifischen Zersetzungen auszuüben, vermehren sich aber und leben auch bei freiem Luftzutritt; man könnte sie facultativ-anaerobiotische nennen. Wieder von anderen Arten ist behauptet worden, dass die Abwesenheit von Luftsauerstoff zu ihrem Leben und Wirken nothwendig sei, dass sie durch

den Luftsauerstoff geradezu getödtet würden: obligat-anaerobiotische. Noch andere Arten kennen wir, bei denen im geraden Gegentheil hierzu mit der Lebensthätigkeit eine Uebertragung von Sauerstoff auf das Substrat vor sich geht: sie erregen Oxydationsgährungen.

Unter den parasitisch lebenden Bakterien giebt es Arten, welche zur vollen Entwickelung durchaus nicht auf den thierischen Organismus angewiesen sind, sondern nur gelegentlich als Parasiten auftreten oder nur einen Theil ihrer Entwickelung im lebenden Organismus durchmachen: van Tieghem's facultative Parasiten. Andere Arten finden in der Regel nur im lebenden Organismus alle Lebensbedingungen, können aber gelegentlich oder in bestimmten Stadien der Entwickelung auch saprophytisch leben: de Bary's facultative Saprophyten. Noch andere Arten endlich scheinen nur der parasitischen Lebensweise angepasst und ganz unfähig zu sein, noch in irgend einem Stadium saprophytisch aufzutreten; diese nennt de Bary streng obligate Parasiten. Wenn es auch im einzelnen Falle oft recht schwer sein mag zu bestimmen, ob ein parasitischer Mikroorganismus dieser oder jener Gruppe angehört, wenn in solchen Fällen auch die Erkennung feiner Differenzen mehr oder weniger abhängig bleibt von dem subjectiven Urtheile des Beobachters, so gestattet diese Gruppirung doch viel zwangloser den realen Verhältnissen gerecht zu werden, als die nur die Extreme berücksichtigende Eintheilung der pathogenetischen, infectiösen Mikroorganismen in ektogene und endogene. Diese letzteren Bezeichnungen gestatten nur ungenügend die Ermittelungen über die Hülfsursachen der Infectionskrankheiten zu verwerthen oder führen zu einer höchst einseitigen Hervorhebung des einen oder anderen Faktors, aber nicht zu einer unbefangenen Beurtheilung aller für die Aetiologie wichtigen Momente. Auch unter den parasitischen Bakterien ist das Sauerstoffbedürfniss ein höchst differentes. Dann ist zu beachten, dass die Parasiten endophytisch im Inneren der Organe oder Zellen leben können, oder vielleicht auch epiphytisch auf der Aussenfläche des Wirthes.

Diese verschiedenen Anpassungserscheinungen lassen sich theoretisch herleiten aus der einfach saprophytischen Lebensweise, wobei

aber zu beachten ist, dass directe Zwischenglieder selten nachweisbar sind und einzelne Arten verschiedene Wirkungen ausüben können.



Die allgemeinste Aufgabe, welche der Bakterienforschung gestellt ist, lässt sich nun kurz dahin präcisiren, zu bestimmen, welcher dieser Gruppen eine Bakterienart angehört.

I. Es ist zu ermitteln ob überhaupt bei einer Zersetzung oder Krankheit Bakterien vorhanden sind oder nicht.

Diese Frage deckt sich im Wesentlichen mit der Frage nach der Generatio spontanea, Abiogenesis, lehrt uns den Werth und die allgemeinen Principien des Sterilisirens kennen und macht uns bekannt mit einer unumgänglich nöthigen Voraussetzung einer einwandsfreien Arbeit über Bakterien.

II. Wenn Bakterien vorhanden sind, ist zu ermitteln, welche Formen dieselben haben.

Diese allgemeine morphologische Frage erfordert, weil die gewöhnliche histologische Technik im Stiche lässt, besondere Kunstgriffe.

III. Jede als anwesend gefundene Form ist rein von allen chemischen und morphologischen Beimengungen für sich zu kultiviren: Reinkulturen.

Die mit Hülfe der Reinkulturen zu lösende Aufgabe ist eine zweifache, indem mit Hülfe derselben die allgemeine morphologische Orientirung ergänzt und erweitert wird und

IV. durch Uebertragung von wirklichen Reinkulturen auf zersetzungsfähige Substrate oder empfängliche Thiere nachzuweisen ist, dass die gefun-

denen Bakterien die Ursache einer Zersetzung oder Krankheit sind.

Ist durch diese Ermittelungen sichergestellt, welcher der geschilderten Gruppen eine Bakterienart angehört, dann sind, gleichfalls ausgehend von Reinkulturen, noch

V. eine Reihe weiterer, später präcisirter biologischer Aufgaben zu lösen, welche in Verbindung mit den ersten Fragen die breite Basis für die theoretischen Betrachtungen und das praktische Handeln liefern.

Die Lösung aller dieser Fragen ist anzustreben. Aber die bis jetzt gewonnenen Erfahrungen haben schon gelehrt, dass dies nicht in allen Fällen möglich sein wird, dass Fälle eintreten können, in welchen die eine oder andere dieser Cardinalfragen ungelöst bleibt. Bei parasitischen Bakterien, welche den höchsten Grad der parasitischen Adaption, den streng obligaten Parasitismus vertreten, wird es vielleicht nur gelingen, den Nachweis der Anwesenheit von Mikroorganismen zu bringen, während sowohl Reinkulturen als Uebertragungen misslingen. Bei anderen Arten dieser Gruppe ist schon ein weiterer Schritt gelungen, indem man Uebertragungen auf Thiere in beschränktem Maasse ausführen konnte. Bei einzelnen pathogenetischen Bakterien der anderen Gruppen sind wieder umgekehrt Uebertragungen nicht geglückt, weil sich bis jetzt keine Thierspecies empfänglich für bestimmte Krankheiten zeigte, dagegen gelangen Reinkulturen; vergl. Infections-Methode.

In derartigen Fällen ist den lösbaren Fragen um so grössere Aufmerksamkeit zu schenken und immer daran zu denken, dass es bei voller Beherrschung der Methoden auch in scheinbar aussichtslosen Fällen doch bisweilen gelungen ist, auch hier allmählich noch alle Fragen mustergiltig zu lösen.

Die durch immer subtilere Technik gewonnenen Thatsachen müssen in jeder naturwissenschaftlichen Disciplin das solide Fundament bilden, auf dem sich erst die Theorien aufbauen. Kein Forscher kann, im Besitze auch noch so vieler Thatsachen, der leitenden Ideen entbehren; aber die Abneigung vieler Forscher gegen jede Speculation wird geradezu erzwungen durch die Art wie von Man-

chen naturphilosophische Deductionen als Naturwissenschaft ausgegeben werden. Gerade die Bakterienlehre hat in dieser Hinsicht zu traurige Erfahrungen gemacht, als dass wir je vergessen sollten, dass die naturphilosophischen Betrachtungen nichts Anderes sein können, als provisorische Erklärungen noch nicht wirklich erkannter Erscheinungen, deren wirklicher Werth aber in erster Linie in der Anregung zur Forschung liegt. Mit Entschiedenheit haben wir uns dagegen zu wahren, dass derartigen, oft recht wüsten Deductionen zuliebe den Thatsachen Zwang angethan wird, dass das solide Fundament der Thatsachen durch billige Witzeleien über das Streben von „Schablonengelehrten" nach „Thatsächelchen" in Misscredit gebracht wird, oder dass gar, wie es auf dem Gebiete der Bakterienlehre mehr als einmal geschehen ist, Theorien zuliebe widerlegte Angaben immer von Neuem als Beweismaterial citirt werden. Mit Entschiedenheit haben wir es zurückzuweisen, dass Speculationen vom grünen Tische dem praktischen Handeln der Hygiene zu Grunde gelegt werden.

Gegen solche traurige Verirrungen der Speculation giebt es kein besseres Mittel, als die eingehende Vertrautheit mit den immer subtiler sich entwickelnden Methoden, welche auf nur wenig Gebieten so eng mit den wirklichen Fortschritten in Wissen und Können verknüpft sind, als gerade auf dem der Lehre von Mikroorganismen als Ursache von Zersetzungen und Krankheiten.

I. Generatio spontanea und die Principien und Methoden der Sterilisation.[1]

Die Reihe der wissenschaftlichen Versuche über diese Frage eröffnete Spallanzani.[2] Er füllte Infuse organischer Substanzen in Flaschen, welche verkorkt und versiegelt und dann eine Stunde im Wasserbade gekocht wurden. Diese Versuche, die Grundlage der Appert'schen Conservirungsmethode, macht man jetzt nach Pasteur besser in Kolben, deren Hals ausgezogen und während des Kochens zugeschmolzen wird. Hin und wieder misslang wohl ein derartiger Versuch bei nur einstündiger Dauer des Kochens, aber der Haupteinwand blieb der, dass kein Sauerstoff zutreten konnte. Gay-Lussac hatte 1810 die Ansicht entwickelt, dass zur Einleitung der Gährungen Sauerstoffzutritt erforderlich sei.

Der nächste methodische Fortschritt bestand darin der Luft nach dem Kochen Zutritt zu verschaffen, aber einer Luft, welche so behandelt war, dass sie keine Keime enthalten konnte. Franz Schulze[3]) wandte einen Kolben an, welcher einen doppelt durchbohrten Kork trug, in dem zwei rechtwinklig gebogene Glasröhren sich befanden, die dicht unterhalb des Korkes endigten. Die fäulnissfähigen Infuse oder in Wasser suspendirten Substanzen wurden so lange auf dem Sandbade erwärmt, bis alle Theile die Temperatur

---

1) Zusammenfassende Darstellungen der Frage über Abiogenesis, Generatio spontanea finden sich bei Gscheidlen, Physiologische Methodik Heft 2, 1876 S. 274; Heft 4, 1879 S. 499, und bei Tyndall, Essays on the Floating-Matter of the air. second edition 1883.

2) Physikalische und mathematische Abhandlungen 1769.

3) Vorläufige Mittheilung der Resultate einer experimentellen Beobachtung über Generatio aequivoca. Poggendorf's Annalen der Physik 1836, Bd. 39, S. 487.

des siedenden Wassers erreicht hatten. Dann wurde, während des Entweichens des Wasserdampfs, an jede der rechtwinkligen Glasröhren ein Liebig'scher Kugelapparat befestigt, von denen der eine mit concentrirter Schwefelsäure, der andere mit Kalilauge gefüllt war. Es wurde nun wiederholt durch Saugen an der Seite des Kaliapparates Luft durch den Kolben gesogen, welche aber vor Eintritt in den Kolben die Schwefelsäure passiren musste. Nun trat trotz Anwesenheit der Luft keine Fäulniss mehr ein, wohl aber in wenigen Tagen, wenn nach dem Kochen gewöhnliche Luft zutrat.

Schwan[1]) zeigte, dass es „nicht der Sauerstoff, wenigstens nicht allein der Sauerstoff der atmosphärischen Luft" sein kann, welcher Gährung und Fäulniss veranlasst, indem er die zutretende Luft durch eine leicht flüssige Metallmischung leitete, welche auf den Siedepunkt des Quecksilbers erwärmt war.

Um dem Einwande zu begegnen, dass hierbei die Luft chemisch alterirt sein könnte, liessen Schröder und von Dusch[2]) die Luft durch Baumwolle streichen, welche entweder in Röhren eingebracht war, die mit den rechtwinklig gebogenen Glasröhren verbunden wurden, oder sie stopften den Hals des Kolbens während des Kochens mit Baumwolle zu. Pasteur[3]) kochte die Infuse in langhalsigen Flaschen, deren Hals langausgezogen und in verschiedener Weise gekrümmt wurde, aber derart, dass das offene Ende nach unten stand. Nach dem Kochen konnte die Luft unverändert, selbst unfiltrirt zutreten und doch trat keine Fäulniss ein.

In der Milch gelang dagegen Pasteur[4]) das Verhüten der Zersetzungen sicher nur bei Steigerung der Temperatur auf 110—112° bei ca. $1^1/_2$ atm. Druck. Die Unzulänglichkeit des Kochens ermittelte

---

[1]) Vorläufige Mittheilung, betreffend Versuche über die Weingährung und Fäulniss. Poggendorf's Annalen 1837, Bd. 41. S. 184.

[2]) Ueber Filtration der Luft in Beziehung auf Fäulniss und Gährung. Annalen der Chemie und Pharmacie 1854, Bd. 89, S. 232.

[3]) Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère. Annales de Chimie et de Physiques III. Ser. T. 64, 1862, S. 66, und kürzere Angaben Compt. rend. Bd. 48, 1859 S. 337, und ibid. Bd. 50, 1860 S. 849.

[4]) De l'origine des ferments. Compt. rend. 1860, Bd. 50, S. 849.

auch Schröder[1]) für einzelne Substanzen, welche er nur durch sehr anhaltendes Kochen oder Steigerung der Temperatur im Digestor bis ca. 2 Atm. sicher sterilisiren konnte.

Zum Sterilisiren mit hohen Temperaturen wurde auf Grund derartiger Erfahrungen der Dampfkessel für **gespannten Dampf** in Form eines gewöhnlichen Digestors oder Papin'schen Dampfkochtopfes eingeführt.

Die anzuwendende Temperatur schwankt zwischen 110—120°, entsprechend einem Drucke von ca. 1—2 Atm. Die Pasteur'sche Schule hat die, in Deutschland besonders von Fitz[2]) vertretene prinzipielle Forderung gestellt, dass zum sicheren Sterilisiren durch Hitze die Temperatur von 110° C. gefordert werden müsse. Da der Wärmeausgleich durch heftige Flüssigkeitsströmungen erfolgt, welche durch die Temperaturdifferenzen hervorgerufen werden, so sollte man a priori von diesen Apparaten die besten Leistungen erwarten, da nach den Gesetzen der dynamischen Wärmetheorie mit Steigeruug der Temperatur die Zeit des Wärmeausgleichs und damit die Zeit des Sterilisirens abnehmen müsste. Diesen theoretischen Postulaten entsprechen manche Apparate[3]), aber durchaus nicht alle[4]). Zu dieser Unsicherheit kommt weiter das Bedenken, dass viele Substanzen bei Steigerung der Temperatur über 100° chemisch alterirt werden, so dass die etwaigen Vortheile des Apparates gegenüber anderen bequemeren und billigeren Apparaten für viele Fälle ganz illusorisch werden. Wer im Besitze eines zuverlässigen, erprobten Dampfkessels ist, wird denselben ruhig gebrauchen können, besonders wenn die zu sterilisirenden Substanzen Temperatursteigerungen über 100° ertragen.

---

[1]) Ueber Filtration der Luft in Beziehung auf Gährung, Fäulniss und Crystallisation. Annalen der Chemie und Pharmacie 1861, Bd. 117, S. 273.

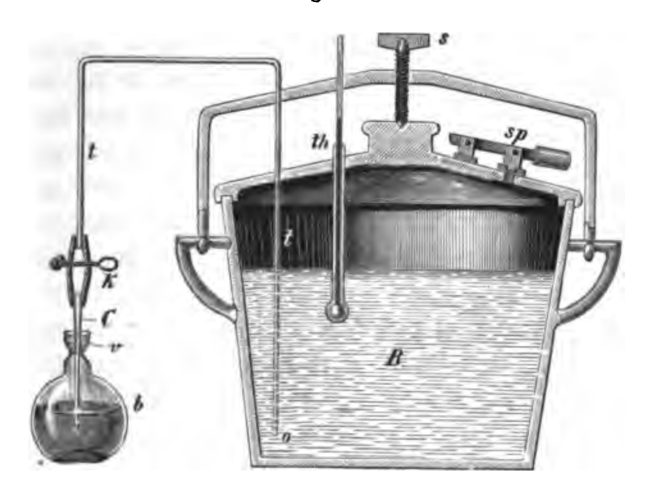
[2]) Ueber Spaltpilzgährungen VII. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1882, Bd. 15, S. 867.

[3]) Fitz: Ueber Spaltpilzgährungen VIII. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft Bd. 17 1884, S. 1188.

[4]) Koch, Gaffky, Löffler: Versuche über die Verwerthbarkeit heisser Wasserdämpfe zu Desinfectionszwecken. Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte I. 1881, S. 322.

Die Grösse des Apparates richtet sich nach den Anforderungen. Der von Nägeli und Buchner verwendete Dampfkochtopf ist so gross, dass man grössere Kolben darin bequem sterilisiren kann. Bei dieser Grösse müssen die in Kolben sterilisirten Lösungen zum Inficiren oder Vertheilen in kleinere Gefässe unter Abnehmen des Deckels aus dem Apparate entfernt und ausserhalb zeitweilig geöffnet werden. Um dem zu entgehen, hat Fol[1]) einen kleineren Apparat gewählt, in dem die Nährlösungen direct erhitzt werden. Der Apparat, Fig. 1, wird soweit gefüllt, dass das untere Ende des


Fig. 1.



Thermometer-Tubus th sicher eintaucht. Dann wird der Deckel durch die Schraube s fest angezogen. Während des Kochens ist die Metallröhre t, welche vorher schon für sich sterilisirt war, so weit herausgezogen, dass das untere Ende o etwas unterhalb des Deckels, etwa beim Buchstaben t, steht; in Folge des Schlusses der Klemme k kann durch die Röhre t kein Dampf entweichen. Bei zu starker Spannung tritt das Sicherheitsventil sp in Thätigkeit. Das Ueberfüllen der Flüssigkeit B in den Kolben b geschieht ohne Oeffnung des Deckels einfach dadurch, dass nach dem Erkalten die Röhre t

1) Nouvelle méthode pour le transvasage de bouillons stérilisées. Archives des scienses physiques et naturelles. Genève. Bd. XI 1884, S. 557.

in die Flüssigkeit B heruntergedreht und die Klemme k geöffnet wird. Die Flüssigkeit geht dann von o aus durch die Röhre t und die Kanäle C in den Kolben b; die einzige besonderer Beachtung bedürftige Stelle der Leitung befindet sich im Halse des Kolbens bei v, der durch einen besonderen Verschluss geschützt ist. Ein solcher Apparat findet seine Anwendbarkeit wohl besonders dann, wenn zu bestimmten Versuchen bestimmte Lösungen in grösseren Mengen hintereinander Verwendung finden sollen.

Will man ohne Dampfkessel Temperaturen über 100° anwenden, so bedient man sich der **Salz-, Oel- oder Paraffinbäder.**

Miquel[1]) verwendet Bäder von Chlorcalcium oder Natriumnitrat, in welchen die vorher vor der Lampe zugeschmolzenen Ballons etc. untergetaucht gehalten werden. Da die äussere Flüssigkeit erst bei ca. 110° kocht, die Flüssigkeit in den Ballons aber schon bei 100° C. kochen kann, platzen in Folge dieser Druckdifferenzen viele Kolben. Werden die Kolben etc. nicht zugeschmolzen und nicht untergetaucht, so tritt in den Salz- etc.-Bädern kein vollständiger Ausgleich der Temperatur im Innern der Kolben und in den Bädern ein.

Soll die Siedetemperatur des Wassers Verwendung finden, so werden grössere Kolben direct, kleinere Kölbchen, Reagirgläser im **Wasserbade** gekocht, in dem aber das Wasser etwas höher stehen muss als der Inhalt der Gläser. Der Wärmeausgleich im Wasserbade vollzieht sich der geringeren Temperatur entsprechend langsamer als im Digestor und Salzbade und ist als unzuverlässig praktisch genügend erprobt.

Zum längeren Kochen empfiehlt sich ein tiefes cylindrisches Wasserbad mit constantem Niveau, dessen Seitentubus so hoch seinmuss, dass das Wasser im Bade höher gehalten werden kann als der Inhalt der Kolben oder Reagirgläser; die in den chemischen Laboratorien gebräuchlichen Wasserbäder mit constantem Niveau genügen für diesen Zweck nicht. Für Reagirgläser dient ein mit vielen Oeffnungen versehener Einsatz, dessen durchbrochener Boden etwa 1 cm über dem direct von der Flamme getroffenen Boden des Wasser-

[1]) Les organismes vivants de l'atmosphère, 1883, S. 144.

bades sich befindet. Dass man oft mit 100° C. in Form des siedenden Wassers auskommen kann, haben schon ältere Versuche von Pasteur und seinen Vorgängern gezeigt, dass man bisweilen damit auskommen muss, ergiebt sich von selbst in Fällen, bei denen Temperaturen über 100° C. Alterationen der Substrate und Lösungen herbeiführen.

Wenn auch genügendes langes Kochen bei 100° C. wirkliches Sterilisiren gestattet und der sichere Erfolg bei dieser Methode wesentlich nur von der Zeit abhängt[1]), so verwendet man die Siedetemperatur des Wassers doch besser in Form **strömender nicht gespannter Dämpfe.** Hierzu dient der Dampf-Sterilisirungs-Cylinder von Koch, Gaffky und Löffler (Fig. 2). Derselbe besteht aus einem ca. $^1/_2$ Meter hohen, 20 bis 25 cm im Durchmesser haltenden Cylinder von starkem Weissblech M, der zum Schutze gegen Wärmeverluste mit einem Asbestmantel umgeben und mit Boden von Kupferblech versehen ist. Im Inneren befindet sich im unteren Drittel bei R ein Rost; der Raum unter demselben wird zu etwa $^3/_4$ mit Wasser gefüllt, welches durch Unterstellen von mehreren Gasflammen (Drei- oder Fünfbrenner) schnell in's Sieden gebracht wird und durch eine Flamme im Sieden gehalten werden kann. Als Verschluss dient ein helmartiger Deckel D aus Weissblech mit Asbestüberzug, der nicht hermetisch schliesst, so dass der Dampf an den undichten Stellen entweichen kann. Im Helme wird ein Thermometer th angebracht. Kleine Formabweichungen, welche bei der Herstellung angewendet werden, haben an dem Princip nichts geändert.

Fig. 2.



Der Apparat kann auch etwas grössere Dimensionen haben.

---

1) Hueppe, Ueber einige Vorfragen zur Desinfectionslehre und über die Hitze als Desinfectionsmittel. Deutsche militärärztl. Zeitschr. 1882. No. 3.

Bei starker Ueberschreitung dieser Dimensionen sind Salzlösungen erforderlich, wenn der Dampf beim Ausströmen 100° haben soll. Dadurch, dass der Dampf nicht ganz frei entweichen kann und eine Abgabe der Wärme nach Aussen durch Strahlung verhütet wird, ist die Temperatur im Inneren von der Oberfläche des Wassers bis zum Helme eine ganz gleichmässige und da der Deckel nicht hermetisch abgeschlossen ist, übersteigt die Temperatur des Dampfes die Siedetemperatur nicht, sondern giebt genau die den Druckverhältnissen entsprechende Siedetemperatur des Wassers, d. h. bei annähernd normalem Barometerstande ca. 100° C.

Die Vortheile des Apparates sind gegenüber den Dampfkesseln: seine Billigkeit und die Unmöglichkeit bei Anwendung von Wasser 100° zu übersteigen, sodass alle Substanzen damit sterilisirt werden können, welche 100° ertragen, aber bei Steigerung über 100° alterirt werden. Der Ausgleich der Temperatur geht sehr prompt von Statten und zeigt die Schwankungen der Dampfkessel nicht, weil die technische Ausführung der Apparate kaum einfacher sein kann und damit die Abhängigkeit von der technischen Ausführung auf ein Minimum reducirt ist. Dem Wasserbade sind die strömenden Dämpfe durch Sicherheit und relative Kürze der erforderlichen Zeit weit überlegen.

Diese practischen Vortheile lassen diesen Apparat für alle die Fälle, in denen hohe Temperaturen zum Sterilisiren gewünscht werden, als den brauchbarsten erscheinen, trotzdem theoretisch sich der Ausgleich der etwas niedrigeren Temperatur gemäss langsamer vollziehen müsste als bei gespannten Dämpfen über 100°. Das Anwärmen abgerechnet beträgt die Zeit des Sterilisirens im Allgemeinen $^1/_2$ bis 2 Stunden, je nach der Grösse der Gegenstände.

Dem Apparate ist ein Einsatzgefäss beigegeben, in welches die kleinen Kolben, Gläser etc. gestellt werden; an den Henkel des Gefässes oder am Halse grösserer Kolben befestigt man Schnüre zum bequemen Heben und Senken, welche man an die am Rande des Cylinders befindlichen Haken H anbindet.

Die Siedetemparatur des Wassers kann man nach Tyndall oft sehr gut in Form des **discontinuirlichen Kochens** anwenden. Manche Substanzen, welche durch Temperaturen über 100° oder

durch sehr langes Kochen verändert werden, werden bisweilen durch dieselbe Temperatur nicht wesentlich alterirt, wenn dieselbe nicht auf einmal längere Zeit hintereinander, sondern öfters in Intervallen, aber nur kurz, einwirkt. Wenn man solche Substanzen, wie z. B. Gelatine etwa 5 Tage hintereinander je einmal kurze Zeit, etwa nur 5 bis 10 Minuten, aufkocht, so gelingt es dieselbe ohne Alterationen zu sterilisiren. Die Keime der Mikroorganismen erliegen diesen öfters, aber nur kurz einwirkenden Temperaturen sicherer als dem länger anhaltenden, auf einmal zu Ende geführten Kochen.

Durch die bisher betrachteten Temperaturen von 100 und mehr Grad C. werden manche Substanzen alterirt; der Zucker beginnt sich zu zersetzen, eine Coagulation der Albuminate tritt ein, manche Ammoniakverbindungen werden zersetzt, Harnstoff wird hydratisirt. Um dieses zu vermeiden, wendet man nach Tyndall (l. c. S. 210 und 337), in einer von Koch [1]) noch wesentlich verbesserten Form, statt des discontinuirlichen Kochens allgemein die **discontinuirliche Sterilisation** an. Die Berechtigung dieser Methode liegt in der Erfahrung begründet, dass die meisten lebenden Bakterien unterhalb der Gerinnungstemperatur des Eiweisses bei relativ niedriger Temperatur getödtet werden, während die Dauersporen, der wichtigste Grund der Anwendung hoher Temperaturgrade [2]), an sich durch diese niedrigeren Temperaturen nicht vernichtet werden, wohl aber wenn sie auskeimen. Lässt man nun Temperaturen unter 75°, etwa zwischen 52 und 65° C. ein bis zwei Stunden auf die zu sterilisirende Flüssigkeit einwirken, so werden sofort nur die lebenden Bakterien, und vielleicht diese nicht einmal sämmtlich, getödtet. In der zusagenden Lösung keimen dann etwaige Dauersporen aus, die einen am zweiten, die andern am dritten oder folgenden Tage. Lässt man nun dieselbe Temperatur an einem zweiten oder dritten Tage ebenso einwirken, so vernichtet man jedesmal die lebenden resp. ausgekeimten Bakterien, und wenn man dies genügend lange fort-

---

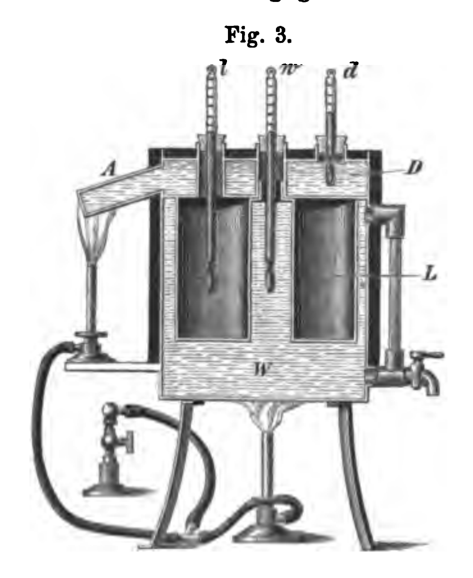
1) Berliner klinische Wochenschrift 1882 No. 15.

2) Cohn: Untersuchungen über Bakterien IV: Die Bakterien und die Urzeugung. Beiträge zur Biologie der Pflanzen Bd. II. Heft 2, S. 249. 1876.

setzt, gelingt es auf diese Weise unterhalb der Zersetzungstemperaturen alle Flüssigkeiten zu sterilisiren. Im Allgemeinen empfiehlt sich eine Temperatur von ca. 58° C. 5 bis 8 Tage hintereinander 1 bis 2 Stunden einwirken zu lassen.

Gegen die Methode ist besonders von Miquel[1]) der principielle Einwand erhoben worden, dass es nach seinen[2]) und van Tieghem's[3]) Beobachtungen einige Bakterien giebt, welche in ihren vegetativen Zellen Temperaturen zwischen 72 und 74° Widerstand leisten, also sicher den Temperaturen von 52 bis 68° widerstehen und der weitere Einwand, dass eine scheinbare Sterilisirung, angezeigt durch Klarbleiben der Lösungen nach 8 Tagen, noch keine wirkliche Sterilisirung beweist, weil einzelne Bakterien längere Zeit zu ihrer Entwickelung gebrauchen als nur 8 Tage. Abgesehen davon, dass es sich hier nur um mögliche Fehler handelt, welche zudem bei richtiger Präparation oder Entnahme der Flüssigkeiten schon auf ein Minimum reducirt werden, kann man sich praktisch dagegen sichern, dadurch dass man die Lösungen vom 8. Tage ab einige Tage ganz ruhig stehen lässt und sie dann noch 2 bis 3 Mal in ähnlicher Weise zwischen 52 und 65° behandelt.

Fig. 3.



Etwas unbequem kann man dies im Wasserbade erreichen, bequemer durch den Apparat Fig. 3. Derselbe besteht aus einem Doppel-Cylinder von Kupferblech, der mit Wasser W gefüllt und durch einen Deckel gut verschlossen wird, der gleichfalls mit Wasser

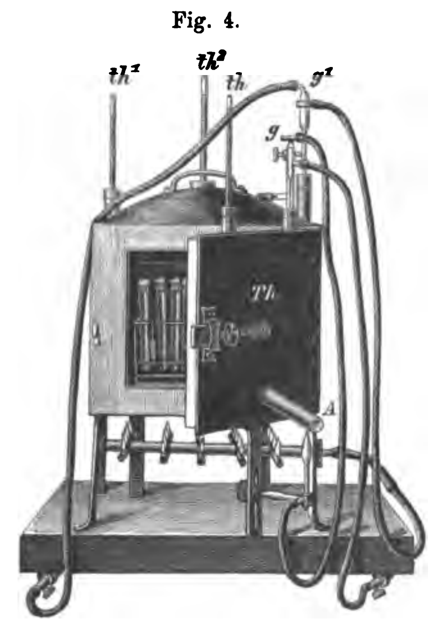
1) Les organismes vivants de l'atmosphère 1883. S. 183, Annuaire de l'observatoire de Montsouris pour l'an 1885. S. 571.

2) l. c. und Annuaire pour l'an 1881.

3) Bulletin de la Société botanique de France 1881. S. 35.

D gefüllt wird. Der Deckel hat seitlich einen mit dem Hohlraume des Deckels communicirenden Ansatz A, welcher durch die darunterstehende Flamme erhitzt wird, während der Cylinder selbst von unten durch eine Gasflamme erwärmt wird. Der Deckel trägt drei Tuben, deren einer zum Füllen des Deckels und zur Aufnahme eines Thermometers d dient, welches die Wärme des Wasser im Deckel anzeigt; ein zweiter Tubus l nimmt das Thermometer auf, welches in den Luftraum L des Cylinders führt, und der mittlere Tubus nimmt ein Thermometer w auf, welches in eine mit dem Wassermantel W communicirende central angebrachte Röhre geht. Die Füllung des Wassermantels geschieht durch einen seitlich angebrachten Tubus. Zur Füllung der Apparate verwendet man vortheilhaft das säurefreie Glycerin, dessen höherer Preis sich durch Schonung der Apparate ausgleicht.

Fig. 4.



Roth[1]) wendet, um ganz constante Temperaturen unter 75° C. zu erhalten und die Beaufsichtigung des Apparates zu erleichtern, statt des Wassers die ungespannten Dämpfe des constant bei 61° C. siedenden Chloroforms an, welches in verschiedener Menge mit Benzin gemischt wird; so siedet z. B. Chloroform mit 10 Volumprocent Benzin bei 59°. Statt der von Koch gewählten Form hat Wiesnegg auf Wunsch von Fol[2]) ohne irgend welche Aenderung des Princips die etwas bequemere Einrichtung getroffen, Fig. 4, dass der Deckel in Wegfall gekommen ist. Die Oeffnung und Beschickung des Apparats geschieht nicht von oben durch

[1]) Deutsche med. Wochenschrift 1885. S. 135.

[2]) La culture des microbes. La Nature 1885. No. 619. S. 301.

einen Deckel, sondern von vorn durch eine mit Wasser gefüllte Thüre Th, deren Wassermasse mit dem Ansatze A communicirt, welcher durch die darunter befindliche mit der Thüre verbundene Flamme erwärmt wird, so dass Oeffnen und Schliessen der Thüre deren Temperatur nicht alterirt. Das Thermometer th und der Thermoregulator g reguliren die Temperatur der Thüre, während die Thermometer th[1] und th[2] und der Thermoregulator g[1] die Temparatur des übrigen Theiles in Ordnung halten. Eine weitere Verbesserung hat Müncke jetzt auf meinen Vorschlag ausgeführt, indem er den Boden nicht horizontal hält, sondern nach unten und der Mitte abfallend verlaufen lässt; der Inhalt des Apparates wird dadurch der Wärmequelle mehr entrückt und dadurch der directen Wirkung des am meisten schwankenden Theiles des Apparates ganz entzogen; die Erwärmung des Apparates ist nicht nur durch die bessere Form des Bodens, sondern auch dadurch noch gleichmässiger gemacht, dass Ableitungsröhren für die Verbrennungsgase den Wassermantel durchziehen.

Die discontinuirliche Sterilisation unter 75° wirkt auf manche Salzlösungen in Folge der langen Einwirkung ebenso zersetzend, wie in kurzer Zeit die Siedetemperatur. Zum Sterilisiren leicht zersetzlicher Ammoniaksalze und besonders des so leicht in kohlensaures Ammoniak zerfallenden Harnstoffs hatte ich es desshalb vortheilhaft gefunden [1]) die Lösungen zunächst ohne das leicht zersetzliche Salz zu sterilisiren und erst nach dem Abkühlen das frisch hergestellte Salz zuzufügen und darauf die fertige Lösung nur noch kurze Zeit bei ca. 60° zu lassen. Dieses Verfahren ist für **Harnstoff** von Leube [2]) noch wesentlich verbessert worden. Leube bestätigte zuerst die schon von Fitz mitgetheilte Erfahrung, dass Harnstofflösungen über 100° überhaupt nicht zu sterilisiren sind, aber er fand weiter, dass schon zwischen 80 und 90° die Harnstoffmolecule in wässerigen Lösungen schnell gelockert werden. Ebenso wie das relativ kurz dauernde Erhitzen auf 80°, wirkt das discontinuirliche

---

1) Mittheilungen aus dem K. Gesundheitsamte 1884. Bd. II, S. 330.

2) Ueber die ammoniakalische Harngährung. Virchow's Archiv 1885. Bd. 100, S. 540.

Erwärmen bei 60°, wenn diese Temperatur, wie es zum Erfolge erforderlich ist, 5 bis 6 Tage lang mindestens 1 Stunde lang einwirkt. Die Brütofentemperatur zwischen 30 und 40° wirkt dagegen nicht auf den Harnstoff. Trockener Harnstoff, der durch wiederholtes Umkrystallisiren aus dem unreinen käuflichen hergestellt wird, verträgt $^1/_2$stündiges Erhitzen auf 106°. Nach Leube verfährt man am besten so, dass man die für 200 cm. der fertigen Lösung bestimmten Salze oder andere Nährmaterialien excl. des Harnstoffs in 150 Ccm. destillirten Wassers einträgt und diese Lösung für sich im Dampfe sterilisirt und abkühlen lässt. Dann wird die entsprechende, vorher abgewogene Menge von trockenem Harnstoff in sterilisirtem Gefässe $^1/_2$ Stunde auf 106° erhitzt und nach dem Erkalten mit einem durch Glühen sterilisirten und wieder abgekühlten Platinspatel in 50 Ccm. vorher sterilisirtes, abgekühltes destillirtes Wasser eingetragen. Nachdem beide Lösungen für sich ganz fertig gestellt sind, wird die Harnstofflösung der Lösung der obigen Salze zugefügt und keine höhere Temperatur als die des Brütofens mehr angewendet.

Zum Widerlegen anderer Einwände, welche für die Existenz der Urzeugung gemacht wurden, kann es wünschenswerth sein, Substanzen zu verwenden, auf welche selbst nicht einmal diese niedrigen Temperaturen unter der Gerinnungstemperatur des Eiweisses eingewirkt haben. Dies Ziel lässt sich in zwei Weisen erstreben, indem man einmal die Lösungen durch Filtration von etwaigen Beimengungen befreit oder indem man dieselben unzersetzt von Anfang an zu gewinnen versucht.

In erster Hinsicht hatte Helmholtz[1]) beobachtet, dass die Hefewirkung nicht durch Membranen hindurch wirkte, dagegen geschah dies bei der Fäulniss. Derartige Membranen waren also für diese Zwecke nicht brauchbar. Positive Resultate erhielt zuerst Tiegel[2]), indem es ihm gelang, durch **Filtration** septischer

---

[1]) Ueber das Wesen der Fäulniss und Gährung. Müller's Archiv für Anatomie und Physiologie 1843. S. 453.

[2]) Correspondenzblatt für schweizer. Aerzte 1871, S. 275, und Ueber die fiebererregende Eigenschaft des Mikrosporon septicum. Dissert. Bern 1871. Citirt nach Klebs.

Flüssigkeiten durch Thonzellen **unter Anwendung positiven oder negativen Druckes** auf einer Seite die septischen Stoffe mechanisch von einer ganz wirkungslosen Flüssigkeit zu trennen.

Einen Filterapparat für Thon kann man sich in folgender, zuerst von Pasteur für seine Porzellancylinder angegebenen Weise improvisiren. Das offene Ende eines rissefreien Thoncylinders wird so dicht und fest mit Watte umwickelt, dass der Thoncylinder mit dem geschlossenen Ende nach unten mit der Watte wie ein Pfropf in einen etwas weiteren und längeren Glascylinder gepresst werden kann, dem Pasteur zum besseren Halt des Wattepfropfes oben eine leichte Verengerung gegeben hatte. Am unteren Ende, etwas über dem Boden, trägt der Glascylinder zwei seitliche Glasröhren, deren eine zugeschmolzen ist, während die andere offene mit einem Wattepfropf versehen wird. Der so hergerichtete Apparat wird durch trockene Hitze sterilisirt. Nach dem Erkalten wird nach Leube l. c. über das obere Ende eine Kautschukkappe gespannt, welche nur in der Mitte eine Oeffnung hat, um den Thoncylinder mit der zu filtrirenden Flüssigkeit füllen zu können. Diese Kautschukkappe schmiegt sich den Rändern des Glas- und Thoncylinders dicht an und schliesst so den Zwischenraum zwischen Glas- und Thoncylinder gegen die äussere Luft ab. Wird nun die offene untere und seitliche Glasröhre des äusseren Glascylinders mit einem Aspirator verbunden, so presst sich die Kautschukmembran noch fester an und es entsteht eine Druckverminderung zwischen Glas- und Thoncylinder. Die im Thoncylinder befindliche Flüssigkeit tritt in Folge dieser Druckdifferenz zu beiden Seiten der Thonlamelle durch diese durch und sammelt sich allmählig am Boden des Glascylinders. Die Ueberfüllung aus dem Letzteren erfolgt durch die bis dahin zugeschmolzene zweite Glasröhre. Pasteur hatte zuerst, statt durch Gummikappe, den Zwischenraum dadurch gegen die äussere Luft abzuschliessen versucht, dass er die den Zwischenraum füllende Watte mit einem guten Kitt überzog.

Pasteur und Joubert[1]) hatten milzbrandbacillenhaltiges Blut

[1]) Comptes rendus 1877. Bd. 84. S. 900; Bd. 85. S. 101.

durch Filtration durch Gips unter Verdünnung der Luft von den Bakterien befreit. Die in Folge dessen in Frankreich wiederholt für Pasteur in Anspruch genommene Priorität der Methode ist aber entschieden unmotivirt, da das Princip bereits 1871 von Tiegel unter voller Würdigung der Bedeutung des Gegenstandes dargelegt und als ausführbar erwiesen war. Die Priorität der Methode gebührt Tiegel und in zweiter Linie dessen Lehrer Klebs, und Pasteur's Betheiligung beschränkt sich auf die Einführung eines anderen Materials. Später hat Pasteur statt Gips Bisquitporzellan und zwar als erster verwendet. Ueber die Form des Pasteur'schen Filters ist zuvor das Nötige mitgetheilt.

Miquel und Benoist[1]) versuchten die Keime gleichfalls durch Gipsfilter zu entfernen.

Der Apparat, Fig. 5, besteht aus einem Ballon mit langem, im unteren Drittel ausgezogenen Halse. Unter der Verengerung wird an der Lampe ein 5 bis 6 cm. langer Capillar p ausgezogen. Ueber der Verengerung wird ein Asbestpfropf a angebracht und über diesen kommt eine 7 bis 8 cm hohe Schicht, f, von folgender Zusammensetzung:

Wasser	46
Modellir-Gips	52,4
Asbest	1,6

Fig. 5.

Der so präparirte Ballon wird ein bis zwei Wochen bei 40° getrocknet, darauf die Spitze p zugeschmolzen und dann der Apparat langsam auf eine Temperatur von 170 bis 180° gebracht. Zum Gebrauche befeuchtet man erst den Gipstampen f mit Wasser, wodurch die Luft aus den Poren verdrängt und die Verbindung mit dem Glase noch inniger wird. Die Verdünnung der Luft im Ballon A kann in folgender Weise ohne directe Aspiration geschehen. Die Spitze p taucht in sterilisirtes destillirtes Wasser und wird unter Wasser abgebrochen. Durch Erwärmen verdrängt man 40 bis 50 Ccm. Luft aus dem Ballon, welche durch das beim

[1]) Bulletin de la Société Chimique de Paris 1881. Bd. 35. S. 552.

Erkalten eindringende gleiche Wasservolumen ersetzt wird. Dieses Wasser bringt man dann zum Kochen, so dass unter Entweichen des Dampfes aus der Spitze p in etwa 5 Minuten die grösste Menge Luft aus dem Apparate verdrängt und durch Dampf ersetzt ist. Wird dann die Spitze p wieder zugeschmolzen, so entsteht beim Erkalten in Folge der Condensation der Dämpfe eine starke Luftverdünnung im Ballon A, welche die über dem Gipstampon befindliche Flüssigkeit B durch denselben hindurch aspirirt.

Gautier[1]) bediente sich sehr langhalsiger Flaschen von Fayence oder unglasirtem Porzellan, welche unten in einen Conus ausliefen. Durch diesen porösen Conus, das eigentliche Filter, soll die zu filtrirende Flüssigkeit von aussen nach innen in die Porzellanflasche eintreten. Zur Erzielung der Luftverdünnung befindet sich in dem Halse der Flasche, durch einen Mennigekitt befestigt, eine rechtwinkelig gebogene Glasröhre, deren einer Schenkel bis zum Boden des Conus herabreicht, während das andere äussere Ende conisch verjüngt ausläuft und genau in eine entsprechende conische Erweiterung einer zweiten Glasröhre passt. Diese zweite Glasröhre ist gleichfalls rechtwinkelig gebogen und das eine Ende, welches später mit dem rechtwinkelig gebogenen Theile der ersten Glasröhre verbunden wird, trägt eine conische Erweiterung, während das andere Ende bis auf den Boden eines Glaskolbens mit engem Halse reicht. Seitlich trägt dieser Glaskolben einen Ansatz mit einer conischen Erweiterung. Die beiden conischen Erweiterungen werden mit Watte geschlossen und dann dieser Glasballon mit Ansatz und mit der Glasröhre für sich sterilisirt. Ebenso wird die Porzellanflasche mit ihrer Glasröhre für sich erhitzt und dann unter Entfernung des einen Wattepfropfs der Conus der ersten Glasröhre in die conische Erweiterung der anderen eingefügt. In die conische Erweiterung des seitlichen Ansatzes des Glaskolbens wird unter Entfernung des Wattepfropfs eine entsprechend conisch auslaufende Glasröhre eingefügt, welche mit ausgeglühtem Asbest angefüllt ist. Die Verbindungen beider conischen Erweiterungen mit

---

1) Stérilisation à froid des liquides fermentescibles. Bulletin de la Société Chimique 1884. Bd. 42, S. 146.

den entsprechenden conischen Verengerungen werden noch mit Schellack gedichtet. Durch Aspiration am freien Ende der Asbeströhre wird die Luft im ganzen Apparate verdünnt und wenn der Conus der Porzellanflasche in eine Flüssigkeit taucht, durch den entstandenen negativen Druck Flüssigkeit in die Porzellanflasche aspirirt, welche ganz keimfrei ist.

Der mit Terpentinöl bereitete, vielfach verwerthbare Mennigekitt besteht aus:

Krystallisirter Borsäure	8
Kieselsäure	2
Mennige	12.

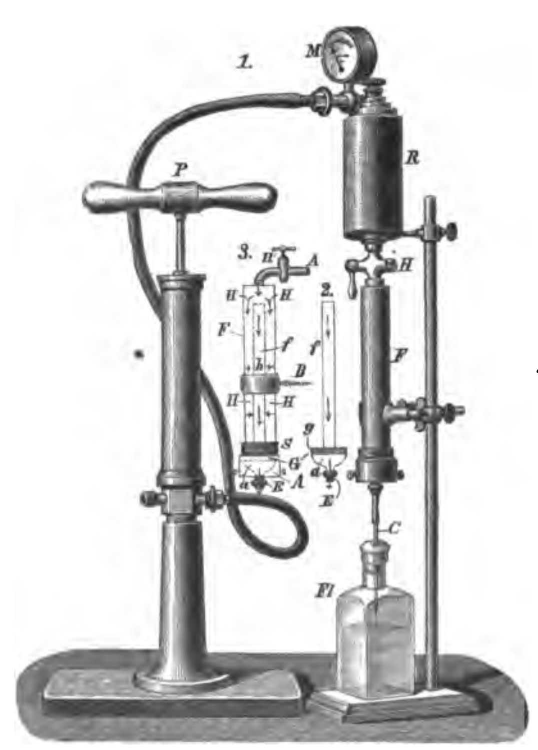
Chamberland[1]) hat den Porzellanfiltern die bis jetzt praktischste Form gegeben, Fig. 6. Das eigentliche Filter, Nebenfigur 2, besteht aus einem oben geschlossenen, kerzenähnlichen hohlen Cylinder f von Bisquitporzellan, an den sich unten der aus glasirtem Porzellan bestehende breitere Theil a mit dem Mundstück E ansetzt; über dem Mundstück befindet sich eine starke Gummiplatte g (G), deren centrale Durchbohrung so gross ist, dass der Cylinder f eben hindurchgeht. Dieser Theil des Apparates kommt dann in den äusseren metallischen, vernickelten Cylinder F, der Nebenfigur 3; durch Anziehen des metallischen Verschlussstückes A des äusseren Cylinders auf der Schraube S wird die Gummiplatte G fest angedrückt. Durch Oeffnen des Hahnes H[1] tritt die Flüssigkeit in den Raum H zwischen dem äusseren metallischen Cylinder F und dem hohlen Porzellancylinder f. Ist der Druck der Flüssigkeit etwa 2 bis 3 Atmosphären, so genügt dieser Druck um die Flüssigkeit, da kein anderes Entweichen möglich ist, in der Richtung der Pfeile durch die Wand des Porzellancylinders f in den Innenraum dieses Cylinders h hineinzupressen. Nebenfigur 3 giebt die für Wasserleitungen brauchbare Form, bei der die Befestigung an der Wand durch die Schraube B erreicht wird; für Laboratoriumsarbeiten empfiehlt sich die Form Hauptfigur 1, bei der die Flüssigkeit in das Reservoir R gebracht und der durch das Manometer M

---

[1]) Comptes rendus de la Société de Biologie. Sitzung vom 4. August 1874 und vom 21. Februar 1885; ein vorher erprobtes Filter habe ich erhalten von Joly, Genf, Rue Gutemberg.

angezeigte Druck durch die Luftpumpe P erreicht wird. Der wunde Punkt bei der Anwendung liegt darin, dass an der Oeffnung E durch Luftinfection oder Manipulationen eine Infection der bis dahin keimfreien Filtrate eintreten kann; die Befestigung der Canäle C an das Mundstück erfordert desshalb die grösste Vorsicht. Der allgemeinen Verwerthbarkeit dieser schon recht handlichen Apparate steht der Umstand entgegen, dass die Porzellanfilter, ebenso gut wie die Thonfilter oft feine Risse haben. Die Filter müssen sorgfältig mechanisch gereinigt u. durch trockene Hitze von ca. 150 bis 160° sterilisirt werden; eine öftere Prüfung auf Risse ist unerlässlich.


Fig. 6.



Neben den bisher angeführten Materialien verdienen Asbest und plastische Kohle noch eine besondere Berücksichtigung, doch sind die hiermit gemachten Versuche noch nicht so weit gediehen, um schon jetzt in Form eines universellen, für wissenschaftliche Arbeiten brauchbaren Apparates gebracht werden zu können; Vorversuche hat Hesse[1]) mitgetheil. Die Sterilisation durch Filtration, welche erst in der Entwickelung begriffen ist, dürfte zur Lösung vieler Fragen über krankheitserregende Organismen von Bedeutung werden. Für etwaige Versuche möchte ich noch auf

[1]) Deutsche med. Wochenschrift 1885, S. 71.

folgende Punkte aufmerksam machen. Wir bedürfen zweier principiell verschiedener Arten von Filter von gleicher technischer Vollkommenheit, einmal solcher, welche nur die Bakterien von den Flüssigkeiten scheiden, ohne die gelösten Stoffe irgendwie zu alteriren und dann solcher, welche nicht nur die Bakterien, sondern auch die Enzyme zurückhalten. Manche Differenzen sind sicher auf derartige differente Leistungen der Filter zurückzuführen.

Die meisten auf diese Weise keimfrei gewordenen Filtrate haben keine tiefgreifenden Alterationen erfahren, aber manche derselben bleiben beim Filtriren nicht unverändert, weil das Filter nicht alle Stoffe gleich gut passiren lässt, so dass eiweissreiche Lösungen oft sogar ziemlich stark quantitativ und qualitativ alterirt werden. Um auch diese Zweifel zu zerstreuen, muss man versuchen, **die Lösungen ganz unzersetzt zu entnehmen durch Anwendung subtilster Reinlichkeit.** Man reinigt vor jeder Manipulation die Hände erst mit Bürste und Seife, dann mit 1⁰/₀, darauf mit 1 p. M. Sublimatlösung, spült die Hände dann mit ausgekochtem Wasser, oder noch besser man entfernt das Sublimat durch Alkohol und den Alkohol durch Aether, den man verdunsten lässt. Auf diese Weise wird jede Verunreinigung durch Tücher, beim Abtrocknen z. B., vermieden. Ueber die Reinigung der Hände zu ärztlichen Zwecken, über Reinigung der Haut zur Vorbereitung von Operationen etc. vergl. Forster[1], Gärtner und Plagge[2] und Kümmel[3]. Alle Gefässe werden gut sterilisirt, die Manipulationen werden sehr schnell und etwaige Operationen unter den antiseptischen Cautelen der modernen Chirurgie vorgenommen. Auf diese Weise gelingt es, Blut, Milch, Urin etc. zu gewinnen, ohne dass jemals an denselben etwas gemacht wurde, aber auch ohne dass eine Zersetzung stattfindet. Einige Einzelheiten folgen später bei der Infectionsmethode und den Uebertragungsversuchen. Es erfolgt weder aus unorganisirter Materie, noch aus „Stickstoffsplittern", noch aus Mikrozymen oder durch „Anamorphose des Protoplasma" die Bildung irgend

---

1) Archiv für Hygiene 1885. Bd. III.
2) Archiv für klinische Chirurgie 1885. Bd. 32. Heft 2.
3) Deutsche med. Wochenschrift 1885. No. 22.

eines Organismus, nicht einmal eines Kokkus, was allerdings viele Autoren nicht abgehalten hat, Molecularbewegung zeigende Körner differenter Herkunft für ächte Kokken anzusprechen, aus denen sich dann später auch Bacillen etc. entwickeln sollten. Die zur Ausführung dieser Versuche erforderliche technische Fertigkeit ist nur durch viele Einzelversuche zu erreichen. Die bisherigen negativen Erfolge waren nur durch ungenügende Technik erreicht, wesshalb alle derartigen Aeusserungen von Befunden von Organismen in den gesunden Säften, von Bildung von Mikroorganismen aus unorganischer Materie, aus Mikrozymen, aus dem Protoplasma durch eine „Amorphose" desselben die schärfste Kritik erfordern.

Durch diese gegen die Generatio spontanea gerichteten Experimente, welche besonders durch Pasteur leicht beherrschbare Form angenommen hatten, und durch die Desinfectionsversuche von Koch wurden auch die noch restirenden Maassnahmen zum Sterilisiren in sichere und bequeme Form gebracht.

Metallgegenstände, Messer, Scheeren, Pincetten, Platinnadeln werden erst mechanisch gereinigt, dann direct in der Flamme geglüht und zum Abkühlen auf eine sterilisirte Glasplatte gelegt, durch Ueberdecken einer Glasglocke gegen Staub geschützt.

Glasgegenstände, Glasplatten, Objectträger, Kölbchen, Reagirgläser werden erst mechanisch gereinigt, dann, wenn sie sehr schmutzig, fettig sind oder schon anderweitig in Gebrauch waren, mit concentrirter Schwefelsäure oder Salzsäure ab- resp. ausgespült und darauf wiederholt mit Wasser, zuletzt mit destillirtem Wasser bis zum Entfernen jeder Spur sauerer Reaction gespült. Das Wasser entfernt man zunächst durch Ablaufenlassen und die letzten Spuren desselben durch Erwärmen im Trockenschranke oder dadurch, dass man dieselben mit Alkohol aufnimmt; den Alkohol giesst man ab und nimmt die letzten Spuren desselben mit Aether auf, den man verdampfen lässt. Je nach dem Grade der Unreinlichkeit, den die Gefässe zu Anfang hatten, wird man bald in skrupulöser Weise diese ganze Procedur vornehmen müssen, bald sich auf mechanisches Ausspülen mit destillirtem Wasser beschränken können. Für bestimmte Zwecke müssen die Glaskolben und Reagirgläser vor dem Gebrauche, nach der einfachen mechanischen Reinigung, tage-

lang ausgekocht werden, weil nicht derart behandelte Glasgefässe dem Inhalt leicht alkalische Reaction verleihen können, welche z. B. nach Leube l. c. bisweilen schon genügt, die Molecule des Harnstoffs zu lockern. Die chemisch gereinigten Gefässe, Kolben und Reagirgläser müssen dann noch keimfrei gemacht werden. Zu diesem Zwecke versieht man den Hals der Gläser mit einem sehr fest schliessenden Pfropfe von Watte, wie er von Schröder und von Dusch in die bakteriologische Technik zuerst eingeführt worden ist, und bringt die Kölbchen direct auf eine der Platten des mit Thermoregulator r und Thermometer t versehenen, doppelwandigen Trockenschrankes, Fig. 7. Die Reagirgläser stellt man bequemer in Körbe aus Draht (d), welche viele derselben aufnehmen. Katheter, Spritzen, Pipetten, Kapillarröhren und andere Glasröhren stellt man in reine Bechergläser und setzt sie mit denselben in den Trockenschrank. Alle derartige Gegenstände bleiben mindestens 2 Stunden bei einer Temperatur von 150 bis 160 ° C., das Anwärmen nicht mitgerechnet. Man lässt die Gegenstände im Trockenschranke abkühlen, so dass man sie direct demselben zum Gebrauche entnimmt oder bewahrt sie mindestens gegen Staub gut geschützt auf.

Fig. 7.



Die Dimensionen des **Trockenschrankes** oder **Sterilisirungsapparates für heisse trockene Luft** richten sich nach dem Bedarf; die Ausführung dieser Apparate hat durch Anbringen einer Einrichtung für Circulation der heissen Luft eine für die Bakteriologie brauchbare Verbesserung erfahren.

Korkverschlüsse sind zu vermeiden; Gummipfropfen, Gummikappen, Verbindungsstücke etc. von Gummi werden nach gründlicher mechanischer Reinigung durch Bürste und Abspülen mit ausgekochtem Wasser durch strömende Dämpfe sterilisirt, denen man sie $^3/_4$ bis 1 Stunde aussetzt.

Die meisten Gefässe werden später noch einmal mit dem In-

halte sterilisirt, wobei man zweckmässig, um das Auffallen von Staub auf die Baumwolle zu verhüten, eine Kappe von zwei Lagen Fliesspapier überbindet, da der Watteverschluss wohl bakteriendicht ist, aber nicht immer sicher gegen das Durchwachsen von Schimmelpilzen schützt. Ueber einige andere Verschlüsse und Vorsichtsmassregeln folgen später noch genauere Angaben.

Die bisherigen Erfahrungen haben gelehrt, dass die Keime aus der Luft seltener Ursache der Misserfolge sind, als die unabsichtlichen Infectionen durch unreine resp. ungenügend sterilisirte Gefässe und die Manipulationen mit nicht sicher sterilisirten Händen und Instrumenten.

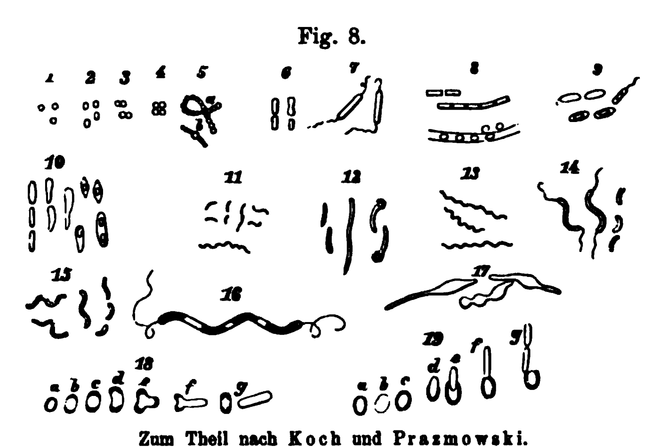
II. Form der Bakterien und mikroskopische Technik.

Bei Betrachtung bakterienhaltiger Substrate unter dem Mikroskope treten uns verschiedene Formen entgegen, über deren allgemeine morphologische Eigenschaften einerseits, über deren Differenzen oder Zusammengehörigkeit andererseits Aufklärung zu erstreben ist.

Das erstere geschieht durch die allgemeine mikroskopische Technik in ihrer besonderen Anwendung auf die Bakterien, während die zweite Frage erst nach Gewinnung der Reinkulturen gelöst werden kann.

Die Formen der Bakterien, Fig. 8, sind kuglige (1, 3, 4, 5), ellipsoide (2), kürzere (6) oder längere (7) stäbchenförmige Zellen;

Fig. 8.



Zum Theil nach Koch und Prazmowski.

weiter beobachtet man gekrümmte Stäbchen (11, 12) und schraubenförmige Organismen (13 bis 16). Diese Formen treten bald isolirt, bald in bestimmter Weise (3, 4, 5) verbunden auf. Die nächste Aufgabe ist es nun, diese Formen auseinanderzuhalten, zu trennen,

dieselben möglichst natürlich zu gruppiren, um so zunächst eine allgemeine Orientirung über die Gestaltungsverhältnisse der Bakterien zu erhalten.

Bei dem gegenwärtigen Zustande unserer Kenntnisse ist es am zweckmässigsten, die beobachteten Formen zunächst nur als **Wuchsformen** anzusehen und die Formen der Einzelzellen und der verschiedenen Verbindungsweisen der Einzelzellen gesondert zu betrachten. Es lassen sich mehrere Gruppen von **Wuchsformen** gut auseinander halten, welche eine leichtere Orientirung auf diesem viel bestrittenen Gebiete ermöglichen[1]).

A. Die Formen der Einzelzellen. Diese hier betrachteten Formen sind zweifellos als einzellig nachgewiesen, repräsentiren das vegetative Stadium und pflanzen sich durch Theilung fort. Bei dem Theilungsvorgange ändert sich selbstverständlich die Form derart, dass die Theilungsprodukte nicht absolut dieselbe Form repräsentiren müssen wie die Mutterzelle. Die Form kann sich wahrscheinlich auch bei geänderten Aussenbedingungen etwas modificiren, doch ist der Grad dieser möglichen Veränderungen noch sehr strittig.

a. Die Kokkenform umfasst isodiametrische, kuglige oder nur wenig gestreckte, ellipsoide Zellen. Das Wort Kokkus bezeichnet demnach im folgenden immer nur eine Wuchsform, keine Gattung.

b. Die Stäbchenform ist nach einer Seite deutlich gestreckt. Sind die Längsbegrenzungen des Stäbchens nicht genau parallel, so ist die Form α) die eines Spindelstäbchens im weiteren Sinne, wie es z. B. Fig. 8 (10) zeigt. Sind die Seiten des Stäbchens parallel, so haben wir β) das gerade Stäbchen (7, 8). Sind bei den letzteren die Enden sehr stark abgerundet, so sind die kleineren derselben nicht sicher von einer ellipsoiden Zelle (6, 9) zu unterscheiden, während bei scharf abgesetzten Enden die Form eines zweifellosen Cylinders (8) resultirt. Die

[1]) Vergl. über diese Fragen meine eben im gleichen Verlage erschienene Arbeit: Die Formen der Bakterien und ihre Beziehungen zu den Gattungen und Arten. 1886.

Länge der Einzelzellen schwankt nach den Aussenbedingungen, dem Stadium der Theilung und den Arten beträchtlich, so dass die früher sehr in den Vordergrund gestellte Trennung in Kurzstäbchen (6, 9) und Langstäbchen (7) nur noch eine nebensächliche Bedeutung hat. Ist die Membran des geraden Stäbchens flexil, so kann dasselbe bei der Bewegung die Form eines gekrümmten Stäbchens annehmen.

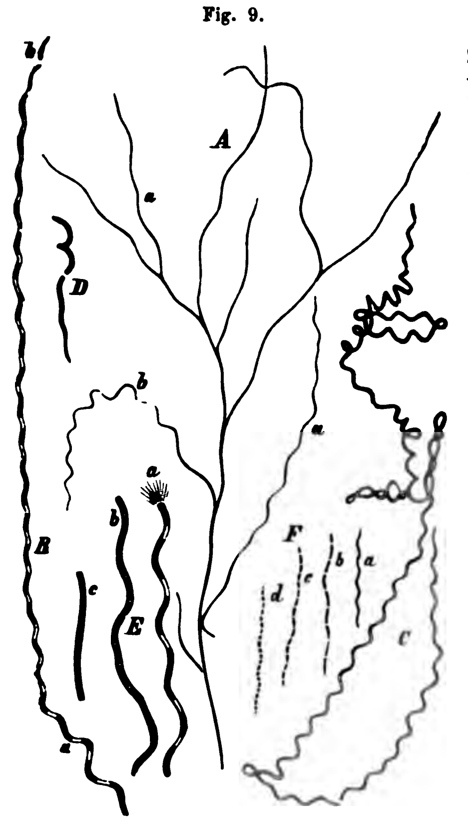
c. Die Schraubenform. Als allseitig anerkannte Einzelzelle kommt diese Form nur vor als scheinbar gekrümmtes, in Wirklichkeit aber schraubig gedrehtes Stäbchen, welches 2 bis etwa 4 mal so lang als breit sein kann. Diese Form (11, 12, 14, 15) ist in der letzten Zeit als „Kommabacillus" populär geworden. Die Stärke der Krümmung oder Windung schwankt nach Aussenbedingungen, Art, Stadium der Theilung; ist das Stäbchen flexil, so kann sich die Krümmung der Einzelzelle sehr schnell ändern, während bei starrer Membran die Krümmung mehr constant ist.

Zu beachten ist, dass gekrümmte oder schraubige Stäbchen den Anschein gerader Stäbchen dadurch hervorrufen können, dass sie mit der Convexität oder Concavität nach oben gerichtet sind. Ein senkrecht stehendes Stäbchen kann den Schein einer Kugel, ein schräg von oben nach unten gerichtetes Langstäbchen den eines Kurzstäbchens erwecken; mehrere aneinander gereihte, aber in verschiedenen Ebenen liegende Kugeln können wie ein Stäbchen mit welliger Begrenzung aussehen. Gegen derartige Irrthümer kann man sich nur schützen durch viele Einzelbeobachtungen unter Anwendung von Reinkulturen, während derartige Beobachtungen in Bakteriengemischen leicht zu falschen Vorstellungen führen. Da die Formen sich vielleicht mit den Aussenbedingungen ändern können, sind die Formen nach Gewinnung der Reinkultur auch unter geänderten Verhältnissen zu prüfen. Auch die mechanischen Verhältnisse der Nährmedien, fester Nährboden, Lösungen, können unter Umständen von Einfluss sein. Bei manchen Bakterien sind besondere Bewegungsorgane, Geisseln, Cilien, beobachtet worden (7, 14, 16). Weiter hat man gefunden, dass die

Zellen absterben und körnig zerfallen können oder dass sie unter Verlust der Keimfähigkeit in unregelmässiger, meist kugliger, blasiger Form aufquellen können (17). Diese letzteren Formen bezeichnet man

d. Als Involutions- oder Degenerationsformen.

Fig. 9.



Cladothrix dichotoma; nach Zopf. A Verzweigte Pflanze mit schwächer (a) und stärker (b) gewundenen schraubenförmigen Zweigen. B Schraube, deren eines Ende (a) stärker gewunden ist als das andere (b). C Langer spirochätenartiger Zweig mit Schlingen und Spirulinen. D Ein Zweigstück mit engen und eins mit flachen Windungen. E Schrauben: a ungegliedert, b mit Andeutung einer Gliederung in längere und c in kürzere Segmente. F Spirochätenform: bei a ungegliedert, bei b bis d schematische Gliederung bei b in längere, c in kürzere Stäbchen und bei d in Kokken.

B. Verbände der Einzelzellen. Die Einzelzellen können

a. frei leben;

b. wenn das Wachsthum nach einer Richtung vor sich geht, können sie im Zusammenhang bleiben und Ketten bilden. Wenn diese Ketten aus scharf abgesetzten Einzelzellen bestehen, entsteht die rosenkranzähnliche Kette der Kokkenform (5a). Sind die einzelnen Zellen oder Glieder der Kette schwach oder undeutlich eingeschnürt, so bilden sich die weniger scharf segmentirten Ketten der Spindelstäbchen und wenn die einzelnen Glieder der Kette aus cylindrischen Stäbchen (8, mittlere Figur) bestehen, können sich kürzere oder längere Ketten bilden, welche wie Fäden bisweilen äusserlich keinerlei Gliederung zeigen (8, unterste Figur). Derartige Scheinfäden sind je

nach der Starrheit der Membran bald gerade, bald wellig gebogen. Aus dem Aneinanderlegen von den kurzen Schraubenstücken entstehen schraubige oder korkzieherartige Fäden. Die Form derartiger Schrauben ist bald eng (11, 13), bald weit gewunden (12), je nach der Stärke der Windung der Einzelzellen, und je nach der Starrheit oder Flexilität der Membran ist die Schraube bald starr und formbeständig (12, 14, 15, 16), bald flexil (11, 13). Bisweilen kann man an demselben Faden verschiedene Grade der Windung, d. h. verschiedene Schraubenformen finden (Fig. 9, A, B). Bei flexilen Fäden kommt es vor, dass sie Schleifen bilden oder sich peitschenschnurartig umeinander winden (Fig. 9, C). Bei einzelnen Arten macht sich an den Fäden ein Gegensatz von Basis und Spitze bemerkbar; und bisweilen findet sich eine Art Verzweigung dadurch, dass eine Zelle sich aus dem Verbande und der ursprünglichen Wachsthumsrichtung herausschiebt und in der neuen Richtung neben dem alten Faden weiter wächst (Fig. 9, A, a); man bezeichnet dies auch als falsche oder Pseudoverzweigung.

Bei den geraden, welligen und schraubigen Fäden kann man oft im Zweifel sein, ob die betrachteten Formen, z. B. bei 11, 12, 13, 16, Fäden sind, also als zusammengesetzt aus kürzeren Segmenten aufzufassen sind, oder ob sie vielleicht einzellige gerade oder gekrümmte Stäbchen oder Schrauben sind. Wenn man also schlechthin von Stäbchen oder Schrauben spricht, versteht man zunächst darunter nur den Habituseindruck derartiger Formen und es ist durch Versuche ad hoc in jedem einzelnen Falle zu untersuchen, ob die Form eine Einzelzelle oder ein Faden, d. h. ein Verband von Einzelzellen ist. Dass alle Stäbchen, Schrauben oder aus denselben zusammengesetzte Fäden eine Zusammensetzung aus isodiametrischen Gliedern zeigen sollen (Ehrenberg, Nägeli), entspricht den Thatsachen nicht.

Geht das Wachsthum nicht nach einer Richtung, so können sich

c. flächenartig angeordnete Gruppen bilden, indem z. B. 4 in einer Ebene liegende Zellen in näherer Beziehung bleiben Fig. 8 (4) oder es bilden sich

d. körperliche Gruppen, wenn z. B. 8 Zellen derart in einem Packet vereinigt sind, dass zwei Lagen von je 4 Zellen unmittelbar im Zusammenhang stehen oder

e. die Zellen bilden keine regelmässigen Gruppen, sondern liegen unregelmässig, haufenweise vereinigt.

C. Die Einzelzellen und ihre einfachen Verbände können durch Vergallerten ihrer Membran **Schleim-Colonien oder Zoogloea** bilden. Die Form der letzteren schwankt von einfachen Kapseln bis zu feinen Decken und grossen Massen der verschiedensten Formen. Keine Wuchsform schwankt so mit den Aussenbedingungen wie die Zoogloea. Die mechanischen Verhältnisse des Nährbodens, fest oder flüssig, und die chemischen Verhältnisse, unter diesen besonders der Gehalt an Kohlehydraten, beeinflussen Form und Mächtigkeit. Doch kehrt bei gleichen Verhältnissen die Form sehr typisch wieder, so dass zur schnellen Orientirung und Artbestimmung diese Wuchsform sehr werthvoll ist.

Die nächste Aufgabe der Untersuchung ist es nun 1) festzustellen, welche der geschilderten Wuchsformen überhaupt vorhanden sind. Nach Gewinnung der Reinkulturen ist 2) zu untersuchen, welche der Formen regelmässig und typisch wiederkehren und deshalb bei der Gattungs- und Artbestimmung besonders berücksichtigt werden müssen. Nachdem die Formen unter den Verhältnissen des spontanen natürlichen Vorkommens oder doch unter möglichst ähnlichen Bedingungen eingehend festgestellt sind, ist zu ermitteln, ob die Formen unter allen Verhältnissen dieselben bleiben oder ob sie sich bei Aenderung der Aussenbedingungen ändern und anpassen, indem sie bald grösser, breiter, bald schmäler, kleiner werden, ob die Veränderungen vor sich gehen, indem die Beziehungen von Länge und Breite und der allgemeine Formhabitus unverändert bleiben oder ob sich vielleicht auch die Relationen ändern oder ganz andere Formen auftreten. Aus diesen Ermittelungen ergiebt sich, ob die Formen als „schlechthin veränderlich“ zu betrachten sind oder ob sich die Breite der Variabilität innerhalb der constanten Merkmale hält.

Lässt man zur Entscheidung derartiger Fragen Reagentien einwirken, so hat man das Stadium wohl zu beachten und ferner in

Rechnung zu ziehen, dass die hierzu beliebten wasserentziehenden Reagentien, wie Jod, Alkohol, und das Austrocknen Schrumpfungen bedingen, welche auf irgend eine Weise compensirt oder durch vergleichende Beobachtungen in ihrem Werthe fixirt werden müssen.

Die allgemeine durch das Studium der Wuchsformen zu lösende Frage ist, ob in der Entwicklung einer Art (Varietät, Rasse, Modification) eine einzige Form oder ein mehr oder weniger enger oder weiter Formenkreis auftritt oder auftreten kann. Cohn hatte es schon lange [1]) als unwahrscheinlich hingestellt, dass irgend eine Bakterienart wirklich monomorph ist und nur in einer Form vorkommt, sondern hatte im Gegentheil kleinere Formcyklen als das wahrscheinlichere angenommen. Neben diesen nicht monomorphen, sondern nur relativ einförmigen Arten sind später noch mehr pleomorphe Arten beschrieben worden. Doch gestatten, wie bereits Cohn lehrte, sämmtliche Wuchsformen zusammen, also die der Einzelzellen (A), ihrer einfachen Formverbände (B) und der Zoogloea (C) nur Formgenera und Formarten zu unterscheiden. Für sich allein genügt keine einzige Wuchsform, um auch nur eine Formart, geschweige denn eine naturhistorische Art zu bestimmen, so dass, wenn man kurz von Arten spricht, man zunächst nur eine Summe specifischer Merkmale meint, ohne Rücksicht darauf, ob es Species-Merkmale sind.

Zur natürlichen Gruppirung in Tribus, Genera, Subgenera, Species gehört auch bei den Bakterien die Kenntniss der **Fructification.** [2]) In dieser Hinsicht zerfallen nach dem gegenwärtigen Stande unserer Kenntnisse die Bakterien in zwei grosse Gruppen, A diejenigen, welche endogene Sporen und B diejenigen, welche Gonidin oder Arthrosporen bilden. Bei den letzteren können sich einzelne Glieder aus dem Verbande trennen und den Werth von Gliedersporen dadurch erhalten, dass diese Zellen resistenter werden als die vegetativen Zellen und dadurch die Art auch unter

[1]) Untersuchungen über Bakterien. Beiträge zur Biologie der Pflanze, Bd. I, Heft 2, S. 127, 1872. 2. Abdruck 1881.

[2]) Hueppe, Fortschritte der Medicin 1883 Nr. 6, 1885 Nr. 19; van Tieghem, Traité de Botanique 1883; de Bary, vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze 1884.

schwierigen Verhältnissen erhalten. Diese Sporen keimen bei günstigen Verhältnissen aus und leiten neue Generationen ein. Morphologisch sind die Arthrosporen nicht immer genügend scharf von den gewöhnlichen vegetativen Zellen, besonders der Kokkenform unterschieden. Der bis jetzt auffallendste Unterschied zwischen Arthrosporen und endogenen Sporen liegt darin, dass bei den ersteren der Inhalt der Spore aus der ursprünglichen Zelle und die Sporenhaut aus der Membran der Mutterzelle hervorgeht, während bei den endogenen Sporen die Spore und ihre Membran aus dem Protoplasma der Mutterzelle sich bildet. Während die Bildung der endogenen Sporen morphologisch gut charakterisirt ist, ist dies bei den Arthrosporen weniger der Fall und daraus ergiebt sich noch der weitere praktische Wink, interimistisch alle diejenigen Bakterien bei den arthrosporen Arten unterzubringen, deren Fructification ganz unbekannt ist. Bei der Bildung der endogenen Sporen ist darauf zu achten, dass bei einzelnen die Form der Mutterzelle sich vor der Sporenbildung nicht ändert Fig. 8 (8, 9), während bei anderen (10, 12) die Zellen eine ellipsoide, keulenförmige oder kopfförmige Erweiterung erfahren, in der sich die Spore bildet. Von Wichtigkeit ist auch die Form der Spore, kuglig, kurzellipsoid, langellipsoid, bohnenförmig, cylindrisch. Bei der Auskeimung der Sporen erfolgt die Wachsthumsrichtung der jungen Zelle bald senkrecht zur Längsachse der Spore (18), bald in derselben Richtung (19).

Bei dem folgenden Versuche einer auf Fructification und Wuchsformen basirten Eintheilung sind die aus Unkenntniss der Fructification vieler Arten resultirenden Zweifel und Controversen derart berücksichtigt, dass der positive Beweis pro oder contra leicht gestattet, die richtige Stellung zu bestimmen.

A. Bakterien mit Bildung endogener Sporen.

I. Gattung Kokkaceen. Die vegatativen Zellen sind durch die Kokkenformen gebildet; eine scharfe Abgrenzung der ellipsoiden Kokken gegen die ellipsoidähnlichen Kurzstäbchen ist nicht möglich; als Formverband der Einzelzellen ist nur die Kette bekannt. Einzelne Kokken, nach van Tieghem[1]) an unregelmässig vertheilten

[1]) Annales des scienses naturelles. Botanique, VII, 1878, S. 180.

Stellen der Kette Fig. 8 (5b), nach Salomonsen[1]) bisweilen alle, vergrössern sich zunächst und in ihnen bildet sich dann die Spore aus.

Untergattungen: 1) Streptokokkus.
2) Leuconostoc.

Die Aufstellung dieser Gattung und ihrer Untergattungen ist nur berechtigt, wenn die als Sporen aufgefassten Zellen wirklich endogen gebildet werden. Leuconostoc wird bis jetzt noch allgemein als besondere Gattung aufgeführt wegen der enormen Gallertmassen, welche er bildet. Da aber die Ketten und Sporen genau so sich verhalten wie bei Streptokokkus und die Differenz wesentlich nur die Zoogloea betrifft, dürfen wohl später diese Differenzen nur als zur Artunterscheidung brauchbar sich erweisen und die Gattung Leuconostoc zu streichen und die Art Leuconostoc beizubehalten sein.

II. Genus Bakteriaceen. Die vegetativen Zellen sind Stäbchen im weitesten Sinne des Wortes, wobei es ganz gleichgültig ist, ob bei schneller Theilung die kleinsten Theilungsproducte noch deutliche Stäbchen sind oder nicht. Die Verbindung dieser Zellen zu Fäden oder unregelmässigen Haufen hängt von den Aussenbedingungen und dem Stadium des Wachsthums ab. Die Fäden sind bald gerade, bald wellig gebogen.

Untergattungen:

1) Bacillus. Die Einzelstäbchen ändern vor und während der Sporenbildung die Gestalt nicht oder doch nicht deutlich.
2) Clostridium. Die Einzelstäbchen sind bei einzelnen Arten schon Spindelstäbchen oder die geraden Stäbchen anderer Arten ändern zum Zwecke der Sporenbildung die Gestalt deutlich.

Dem gegenwärtigen dürftigen Wissen entspricht es mehr diese kleinen auf Fructification begründeten Differenzen hervorzuheben und es der Einzelforschung der nächsten Jahre zu überlassen festzustellen, ob diese Differenzen wirklich so durchgreifend sind. Ein Zusammenwerfen in eine einzige Gattung ist immer leichter als eine spätere Trennung, doch scheinen mir die Differenzen nicht gross genug, um ganz differente Gattungen aufzustellen.

---

[1]) Botanische Zeitung, 1876, No. 39, p. 621, Anmerkung.

III. Genus Spirobakteriaceen. Die vegetativen Zellen sind die als „Kommabacillen“ populären kurzen Schraubenstäbchen; die Länge, Stärke der Windung schwankt nach Arten und Aussenbedingungen und ebenso die Länge und Form der Windung der aus dem Zusammenhängen der Einzelzellen hervorgehenden schraubigen Fäden oder Schrauben.

Untergattungen:

1) Vibrio. Die Einzelstäbchen erweitern sich vor der Sporenbildung und die Sporen bilden sich in dieser Erweiterung.
2) Spirillum. Die Einzelstäbchen und in Folge dessen auch die aus denselben zusammengesetzten Schrauben erfahren bei der Sporenbildung keine Formveränderung.

B. Bakterien mit Bildung von Arthrosporen incl. der Bakterien mit unbekannter Fructification.

I. Gattung Arthro-Kokkaceen. Die vegetativen Zellen werden durch die Kokkenform dargestellt. Die Art der Verbindung bedingt folgende

Untergattungen:

1) Arthro-Streptokokkus. Die Zellen bilden Ketten.
2) Merista. Die Zellen bleiben nach der Theilung derart im Zusammenhang, dass 4 Zellen in einer Fläche angeordnet, eine Tetrade, Fig. 8 (4) das Höhestadium darstellen. Daneben kommen aber auch einzelne Zellen, Doppelkokken, kleine Ketten und beim Verfall der Tetraden später auch unregelmässige Gruppen vor.
3) Sarcina. Durch Theilung nach den drei Richtungen des Raumes entstehen waarenballenähnliche Packete von 8 Zellen als Höhestadium. Neben denselben finden sich auch Einzelzellen, Doppelkokken, Tetraden und beim Zerfall der Packete unregelmässige Anhäufungen. Ketten sind bis jetzt nicht beobachtet.
4) Mikrokokkus. Unregelmässige Anhäufung von Kokkenformen.

Zum Verständnisse sei noch das folgende bemerkt. Die Untergattungen Arthro-Streptokokkus, Streptokokkus und Leuconostoc sind möglicherweise später in eine einzige Gattung Streptokokkus zu ver-

einigen, wenn sich herausstellen sollte, dass die vermutheten endogenen Sporen nur Arthrosporen sind, wie van Tieghem und mit ihm de Bary jetzt geneigt sind anzunehmen.

Für die Aufstellung einer Unter-Gattung Askokokkus, welche sich als 5. unmittelbar an die Mikrokokken anreihen würde, finde ich keine zwingende Gründe. Das einzige Formmerkmal, welches eine gewisse Berechtigung geben könnte, ist die Schlauchform der Zoogloea, betrifft also die schwankendste aller Wuchsformen, während die Anordnung der Zellen in der Zoogloea gar nichts besonderes bietet. Die Trennung von Merista und Sarcina dagegen ist vorläufig noch aufrecht zu erhalten, da wir von der einen nur Tetraden, von der anderen ausserdem Packete kennen; bei der einen sind kleinere Ketten beobachtet, bei der anderen nicht. Diese Unterschiede betreffen ein relativ constantes Formmerkmal, die Art der Verbindung der Einzelzellen.

II. Gattung Arthro-Bakteriaceen. Die vegetativen Zellen gehören der Stäbchenform an. Die Verbindung der Einzelzellen ist bisweilen eine lockere, in Zoogloea; in gewissen Entwicklungsstadien kommen mehr oder weniger regelmässige Fadenbildungen vor. Die Fäden zeigen keinen deutlichen Gegensatz von Basis und Spitze.

Untergattungen:

1) Arthro-Bakterium oder Bakterium s. str. Die Fäden können gerade oder wellig gebogen sein.
2) Spirulina (Proteus). Die Fäden können gerade, wellig gebogen und in verschiedenen Graden schraubig gewunden sein.

Unser Wissen über diese Formen ist erst in der Entwicklung begriffen. Vielleicht sind später die beiden Untergattungen in eine einzige zu vereinigen und manche hierher gehörige Formen gehören vielleicht zu den Bacillen oder Clostridien.

III. Gattung Arthro-Spirobakteriaceen. Dieselben Wuchsformen wie die Spirobakteriaccen, d. h. als vegetative Zellen kurze Schraubenstücke, sogenannte Kommabacillen, und die Fadenzustände derselben mit je nach den Aussenbedingungen und Arten schwankenden Graden der Windung, und bald flexilen, bald starren

Schrauben. Der einzige Unterschied gegen Vibrio und Spirillum liegt in dem von mir erbrachten Nachweise, dass sie Arthrosporen bilden.

Untergattung 1: Spirochäte.

Zu den bisher betrachteten Bakterien hatte zuerst Cohn noch einige Arten in nähere genetische Beziehung gebracht, welche man vor ihm als cholorophyllose Spaltalgen aufgefasst hatte. Zopf hat diese Formen dann definitiv den Bakterien zugewiesen. Die hierher gehörigen Formen kann man, zum Theil nach Zopf, in folgender Weise eintheilen:

IV. Leptothricheen. Das vegetative Stadium ist durch Stäbchenformen gebildet. Die Fäden können gerade, wellig oder schraubig sein und zeigen bisweilen dadurch, dass das eine Ende sich festsetzt, einen Gegensatz von Basis und Spitze.

Gattung 1: Crenothrix. Die Fäden zeigen Scheidenbildung; die Arthrosporen sind vielleicht schwärmfähig.

Gattung 2: Beggiatoa. Die Fäden ohne Scheide. Die Zellen können bei der Reduction von Sulfaten Schwefelkörner in sich aufnehmen.

Gattung 3: Phragmidiothrix ist noch von zweifelhafter Zugehörigkeit; sie zeichnet sich dadurch aus, dass die Fäden in niedrige Cylinderscheiben gegliedert sind, welche sich in Halbscheiben, Scheibenquadranten und schliesslich in Kugeln gliedern.

Gattung 4: Leptothrix von Zopf unterscheidet sich von den Arthro-Bakteriaceen nur dadurch, dass die Fäden durch Festsetzen bisweilen einen Gegensatz von Basis und Spitze zeigen können. Ich vermag bis jetzt keinen scharfen Unterschied zwischen diesen Formen zu finden und muss die Möglichkeit offen halten, dass Arthro-Bakterium, Spirulina und Leptothrix später ev. zu vereinigen sind, soweit sie nicht etwa zu den endogenen Bakteriaceen gehörig sich herausstellen sollten.

V. Cladothricheen. Fig. 9. Zeigen dieselben vegetativen Zellen der Stäbchenform. Die Fäden können gerade, wellig gebogen und schraubig gedreht sein. Die Fäden können Pseudoverzweigungen bilden.

Gattung 1: Cladothrix.

Ueber den Werth der Formen ist grundlegend die Arbeit von Cohn[1]), in welcher er die Beziehungen von Wuchsform, Formgenus, Formspecies, ächten Arten, Formarten, physiologischen Arten zuerst klarlegte. Diese Arbeit ist nicht nur von seinen Gegnern oft ganz falsch verstanden worden, sondern auch im entgegengesetzten Sinne von seinen übereifrigen Anhängern, welche Cohn's Argumente für das Vorkommen ächter Arten unter den Bakterien wiederholt im Sinne einer vordarwinischen Art- und Formconstanz interpretirt haben.[2])

Nachweis der Bakterien im ungefärbten Zustande.

Die älteste Methode besteht darin, dass man ein Tröpfchen einer bakterienhaltigen Flüssigkeit oder eine Spur des bakterienhaltigen Materials, in einem Tröpfchen indifferenter Flüssigkeit verrieben, auf den Objectträger bringt, das Deckglas darauflegt und

---

1) Untersuchungen über Bakterien. Beiträge zur Biologie der Pflanze, Bd. I, 2. Heft, S. 127. 1872. 2. Abdruck 1881.

2) Zur weiteren Orientirung über diese Fragen:

Naegeli: Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infectionskrankheiten und der Gesundheitspflege 1877;

Naegeli und Buchner: in Naegeli's Untersuchungen über niedere Pilze 1882;

Koch: Zur Aetiologie des Milzbrandes. Mittheilung aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. Bd. 1. 1881, S. 49.

Gaffky: Experimentell erzeugte Septicaemie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und accomodative Züchtung. ibid. S. 80.

Flügge: Fermente und Mikroparasiten 1883 und deutsche med. Wochenschrift 1884, No. 46.

Zopf: Die Spaltpilze. 3. Aufl. 1885.

Van Tieghem: Traité de botanique 1883.

de Bary: Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze 1884 und Vorlesungen über Bakterien 1885. (Während des Druckes erschienen.)

Hueppe: Ueber die Zersetzungen der Milch und die biologischen Grundlagen der Gährungsphysiologie. Deutsche med. Wochenschrift 1884. No. 48—50 und die Formen der Bakterien. 1886.

Buchner: Beiträge zur Kenntniss des Neapeler Cholerabacillus. Archiv für Hygiene, III, 1885. (Während des Druckes zugegangen.)

nach den Regeln der histologischen Technik beobachtet. Das Bild kommt in diesen Fällen in derselben Weise zu Stande, wie bei ungefärbten Präparaten überhaupt dadurch, dass die Objecte wegen ihres von der Einschlussflüssigkeit abweichenden Lichtbrechungsvermögens nach Koch „durch Diffraction der durchgehenden Lichtstrahlen ein aus Linien und Schatten bestehendes Bild, das Structurbild" liefern. Man beobachtet in diesen Fällen mit Blenden, wie bei anderen histologischen Arbeiten, bei denen man das Structurbild beobachten will.[1]) Reicht das diffuse Tageslicht nicht aus um den stärkeren Objectivsystemen genügend Licht zuzuführen, so bedient man sich eines Condensors, der nicht das Structurbild auslöschen, sondern das ungenügende Licht verstärken soll. Für diese Art der mikroskopischen Beobachtung dürfte wohl von allen Condensoren der achromatische Condensor der grösseren englischen Instrumente der beste sein.

Die Trockensysteme reichen für die meisten Bakterien nicht aus, um nur annähernd richtig die Form zu erkennen, man muss desshalb schon bei dieser Art der Untersuchung Immersionssysteme anwenden, bei denen nach Amici die Luftschicht durch ein stärker brechendes Medium ersetzt wird, welches den Fehler beim Austritt der Strahlen aus dem Deckglase möglichst corrigirt. Da Deckglas und Frontlinse der Objective aus Crownglas bestehen, so corrigirt Wasser wegen zu geringen Brechungsexponenten den Fehler nicht ganz, so dass bei den Wasserimmersions-Systemen Correctionsfassung und besondere Deckglasdicke erforderlich werden. Die Correction wird aber erreicht, wenn die Immersionsflüssigkeit denselben Brechungsexponenten hat wie Crownglas. Eine solche Flüssigkeit stellt nach

---

[1]) Zur weiteren Orientirung über das Mikroskop und die mikroskopische Technik:

Dippel: Das Mikroskop. 2. Aufl. I. 1882/83 und Grundzüge der allgemeinen Mikroskopie 1885.

Frey: Das Mikroskop und die mikroskopische Technik, 7. Aufl., 1881.

Behrens: Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Uutersuchungen 1883.

Strassburger: Das botanische Practicum 1884.

Friedländer: Mikroskopische Technik. 2. Aufl. 1884.

Fol: Lehrbuch der vergl. mikroskop. Anatomie 1884.

Abbé[1]) „eine optisch homogene Verbindung her zwischen dem Präparat und dem Objectiv, welche alle Brechung der Lichtstrahlen vor der ersten kugelförmigen Fläche des optischen Systems aufhebt."

Hierdurch wird der Lichtverlust durch Reflexion an Trennungsflächen optisch verschiedener Medien beseitigt und zugleich „ein sehr erheblicher Betrag von sphärischer Aberration im Entstehen unterdrückt." Ausserdem kann die Correctionsfassung wegfallen, und die Deckglasdicke bedarf keiner so sorgfältigen Controle, „denn sobald das Zwischenmedium in Refraction und Dispersion dem Deckglase gleichartig ist, wird es für die optische Wirkung gleichgiltig, ob eine dickere Schicht Glas und eine entsprechend dünnere Schicht der Flüssigkeit, oder umgekehrt, zwischen Object und Linsensystem eingeschaltet ist."

In diesem Sinne war von Amici zur Steigerung des Brechungsexponenten Anisöl, von Spencer Glycerin verwendet worden. Neben der Beseitigung der Deckglas-Correction verlangte Stephenson[2]) zugleich zur Steigerung des Unterscheidungs-Vermögens Vergrösserung des Oeffnungswinkels. Diese Verbindung beider Postulate durch Stephenson, ihre Berechnung durch Abbé, ihre Construction durch Zeiss und die Einführung dieser Systeme für **homogene Immersion** durch Koch[3]) bezeichnen für die mikroskopische Seite der Bakterienforschung einen neuen Aufschwung.

Bei den grossen Preisdifferenzen werden Empfehlungen von bestimmten Firmen gar zu leicht missverstanden. Als Norm kann gelten, dass das billigste Instrument das theuerste ist, wenn sein niedriger Preis durch schlechte Ausführung erzielt ist, und dass umgekehrt, die theuersten Systeme und Instrumente in Wirklichkeit oft durch die vorzügliche und gleichmässige Ausführung, Sicherheit und Bequemlichkeit der Handhabung, Höhe der Leistungsfähigkeit, sich als billig herausstellen. Die Systeme für homogene Immersion von Zeiss stehen noch immer unbedingt an der Spitze und

---

1) Ueber Stephenson's System der homogenen Immersion. Sitzungsberichte der Jenaischen Gesellschaft f. Med. und Naturw. 1879. 10. Januar.

2) On a large-angled immersion-objective. Journal of the R. Mikroskop. Society. 1878. p. 51.

3) Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten, 1878.

besitzen wohl ausnahmslos auch die angegebene numerische Appertur, so dass das gerade für unsern Zweck wichtige hohe Auflösungsvermögen auch vollständig vorhanden ist. Vorzügliche, bei weitem billigere Systeme liefern Seibert und Winkel, denen sich jetzt Hartnack, Klönne und Müller mit Erfolg anschliessen; homogene Immersion $^1/_{12}$ habe ich auch von Leitz und Reichert in guter Ausführung gesehen. Die Wahl des Praktikers ist dadurch jetzt schon eine recht grosse geworden und ein für die gewöhnlichen Bedürfnisse ausreichendes System von ca. $^1/_{12}$ schon ziemlich billig mit 150 bis 200 Mark zu erreichen. Von ausländischen Firmen liefern Powell und Lealand in London die besten Systeme für homogene Immersion, welche an die von Zeiss heranreichen, aber noch theurer sind.

Die beste Flüssigkeit ist das ätherische Cedernholz-Oel, dessen Brechungsindex dem des Crownglases gleich ist, dessen Dispersion diejenige des Crownglases nur in geringem Grade übertrifft. In bestimmter Weise eingedickt bietet es die meisten optischen Vortheile mit bequemer Handhabung. Durch Vermischung anderer, stärker brechender ätherischer Oele, Nelken-, Fenchel-, Anis-Oel, mit Oliven- oder Ricinus-Oel, kann man Immersions-Flüssigkeiten erhalten, welche der mittleren Lichtbrechung des Cedernöles gleichkommen oder dieselben in bestimmtem Grade noch übertreffen.

In Folge der Beseitigungen der lästigen Deckglascorrection, welche aber den, durch verschiedene Tubuslänge erreichten, Einfluss verschiedenen Bildabstandes auf die Aberration in feiner Weise zu compensiren gestattet, sind die Objective für homogene Immersion immer für bestimmte Tubuslänge adjustirt. Es ist deshalb zu beachten, dass Verlängerung des Tubus über diese Normallänge im Sinne der sphärischen Uebercorrection, Verkürzung im Sinne der Untercorrection wirkt. Bei richtiger Wahl der Tubuslänge wird die Aberration vollständig beseitigt, wenigstens für die bei den bakteriologischen Arbeiten erforderlichen Präparations- und Einbettungmethoden, und die Definition d. h. die Reinheit und Vollkommenheit der Bildzeichnung lässt nichts zu wünschen übrig. Der Vortheil für das praktische Arbeiten, wie er aus dem Wegfallen der Correctionsfassung resultirt, ist aber gar nicht hoch genug an-

zuschlagen von Jemandem, der das Mikroskop als Mittel zum Zwecke wissenschaftlicher Forschung gebraucht. Wer die Mikroskopie als Sport treibt und im Betrachten von Diatomenschaalen und anderen schönen Präparaten aufgeht, mag mit den Correctionsfassungen seine Zeit todt schlagen, um einer idealen Definition nachzugehen und die Aberration auch für alle die Präparationsmethoden zu beseitigen, die für wissenschaftliche Arbeiten überflüssig sind. Die Deckglasdicke erfordert im Allgemeinen bei Anwendung der homogenen Immersion, besonders bei den schwachen Systemen von $^1/_{10}$ bis $^1/_{12}$ keine besondere Beachtung, doch ist es gut hierin auch nicht zu bequem zu sein. Für besondere Arbeiten wird man gut thun, sich mindestens zwei verschiedene Deckglasdicken auszuprobiren, von denen die eine für die zu Gebote stehende schwächste Immersionslinse ($^1/_{10}$ bis etwa $^1/_{14}$), die andere für die stärkste Linse (von $^1/_{16}$ bis $^1/_{20}$) etwas sorgfältiger gewählt ist.

Bei Benutzung bringt man ein Tröpfchen Oel auf das Deckglas, schraubt mit dem Triebe zur groben Einstellung oder, bei Fehlen desselben durch schraubende Bewegung des Tubus mit der Hand den Tubus soweit herunter, dass die Frontlinse des Objectivs das Oel berührt und das Bild eben anfängt sichtbar zu werden, worauf die feinere Einstellung mit der Mikrometerschraube erfolgt. Andere ziehen es vor das Oeltröpfchen auf die Frontlinse zu bringen, noch Andere bringen je ein entsprechend kleineres Tröpfen Oel auf Deckglas und Frontlinse. Nach dem Gebrauche wird das an der Linse hängende Oel mit einem feinen Leinwandläppchen (weniger gut mit Fliesspapier) sorgfältig abgetupft und das System in die Kapsel eingeschlossen. Soll das Deckglaspräparat aufbewahrt werden, so wird das Oel vom Deckglase durch Fliesspapier abgesaugt oder schonend abgewischt und der Rest event. durch Chloroform oder Benzin entfernt. Die Entfernung des Oels ist immer etwas unangenehmer und weniger reinlich als das Arbeiten mit Wasserimmersionen, wird aber durch die andern Vortheile übercompensirt.

Nach histologischer Tradition, welche durch den früheren Zustand der Instrumente bedingt war, soll man Steigerungen der Vergrösserung mehr durch Steigerung der Systeme als der Oculare erstreben. Nach rein physikalischen Ermittelungen hängt aber die

Stärke der Oculare, welche ein Objectiv mit Vortheil verträgt, vom Oeffnungswinkel des letzteren ab. Je grösser der Oeffnungswinkel, desto stärker kann ceteris paribus das Ocular sein. Unsere besten homogenen Systeme entsprechen diesem Postulate derart, dass man dieselben durch Anwendung der stärksten Oculare ausnutzen kann, wenn der Beleuchtungsapparat entsprechend stark ist und genügende Appertur hat.

Bei dieser Art, Bakterien ohne besondere Präparation zwischen Objectträger und Deckglas zu beobachten, macht sich sofort eine Unsicherheit dadurch bemerkbar, dass fast alle Bakterien in Bewegung sind. Zum Theil scheinen es spontane Bewegungen zu sein, zum Theil einfache Brown'sche Molecularbewegung wie bei allen in Flüssigkeiten suspendirten feinsten Partikeln. Wegen der Kleinheit der Objecte erschweren diese Bewegungen das genaue Beobachten, so dass man schon früh darauf verfiel dieselben aufzuheben und die Gestalt von Mikroorganismen zu fixiren durch „Narcotisiren“ [1]), indem man mit einer Nadelspitze eine Spur Opium, Weingeist oder verdünnter alkoholischer Jodtinctur zum Wassertropfen hinzusetzte.

Ein weiteres Mittel, besonders um die kleinsten, kugeligen, mit körnigem Gewebsdetritus leicht zu verwechselnden Bakterien in Geweben schärfer zu erkennen, ermittelte v. Recklinghausen [2]), indem er die Bakterien ausgezeichnet fand „durch ihr gleichmässiges Korn und durch ihre fast vollständige Unveränderlichkeit in Essigsäure, Glycerin, selbst Natronlauge.“

Baumgarten [3]) konnte Tuberkelbacillen, welche er durch Färbungen nach den damals üblichen Methoden nicht erkannte, durch ihre Resistenz gegen sehr verdünnte Kalilauge sichtbar machen.

Sowohl zum Fixiren als zum Differenziren besitzen wir jetzt bequemere Mittel. Aber es würde ganz unrichtig sein desshalb Bakterien nicht mehr unfixirt und ungefärbt zu untersuchen. Es ist im Gegentheil durchaus nöthig die Bakterien unter möglichst natür-

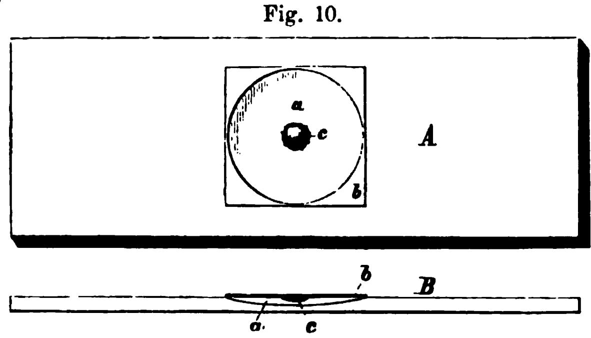
1) Perty, Zur Kenntniss kleinster Lebensformen 1852, S. 13.

2) Verhandlungen der Physikal-Medicin. Gesellschaft in Würzburg. N. F. II. Bd., Heft 4, 1872. Sitzungsbericht S. XII.

3) Centralblatt f. d. med. Wissenschaft 1882, No. 15.

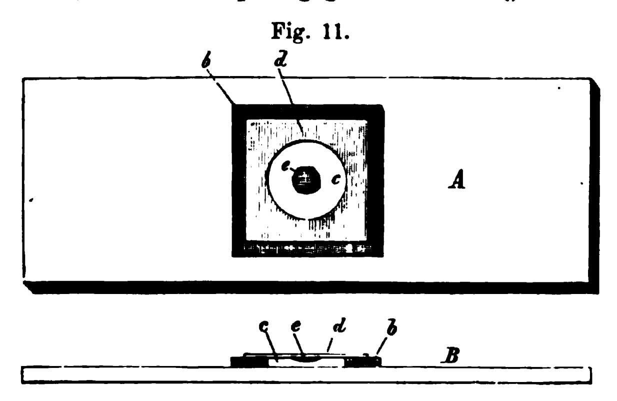
lichen Verhältnissen zu beobachten, um über ihre Bewegungen Aufschluss zu bekommen, Sporenbildung und Sporenauskeimung direct zu verfolgen und die Formen nach anderer Behandlung zu controlliren.

Fig. 10.



Hierzu bedienen wir uns aber nicht der erst geschilderten Art der Untersuchung, sondern der **feuchten Kammern.** Zur Orientirung nach dieser Richtung kann dienen der hohle Objecträger A, B in Fig. 10; auf ein vorher durch die Flamme gezogenes und wieder abgekühltes Deckglas (b) wird ein flaches Tröpfchen (c) der bakterienhaltigen Flüssigkeit gebracht, das Deckglas schnell umgekehrt und mit dem nach unten hängenden Tropfen (c in Fig. B) über die Höhlung (a) gelegt und durch Vaselin, Wachs, Paraffin oder Balsam umrandet, um den Tropfen gegen Verdunstung zu schützen.

Fig. 11.



Eine andere, bessere Form stellt Fig. 11 dar. Auf dem Objectträger, A resp. B, ist eine Glasplatte (b) aufgekittet, welche einen kreisförmigen, centralen Ausschnitt (c) hat; durch Auflegen des

Deckgläschens d über diesen Ausschnitt entsteht eine Kammer, welche im Gegensatze zu dem einen Kugelabschnitt darstellenden Hohlraume von Fig. 10, von parallelen Wänden begrenzt ist. Das Tröpfchen e wird in gleicher Weise befestigt und hängt ebenso in den Hohlraum hinein. Improvisiren kann man sich diese Kammer, indem man statt des aufgekitteten Glases ein Stück entsprechend ausgeschnittene dünne Pappe, angefeuchtet, auf einen gewöhnlichen Objectträger andrückt.

Zur directen Beobachtung bei höherer Temperatur dient einer der gebräuchlichen **heizbaren Objecttische.** Die bis jetzt beste Form für unsere Zwecke ist von Löwitt[1]) angegeben und von Reichert construirt. In die centrale, für den Durchtritt des Lichtes bestimmte Oeffnung kann ein aus zwei Convexlinsen bestehender Condensor eingefügt werden. Wegen dieser Befestigung im heizbaren Tische liegt der Brennpunkt des vom Spiegel und Condensor gelieferten Strahlenbündels so hoch über dem Tische, dass das Object ungefähr in den Brennpunkt zu liegen kommt, wenn man die Höhe der feuchten Kammer entsprechend nimmt, während man ohne einen im heizbaren Objecttisch selbst befestigten Condensor sehr grossen Schwierigkeiten begegnet, wenn man homogene Immersion $^1/_{12}$ verwenden will, weil der Brennpunkt des im Tische des Mikroskopes befestigten Condensors keine Rücksicht auf die Dicke des heizbaren Objecttisches nimmt und in Folge dessen nicht hoch genug reicht. Die Beobachtungen von Bakterien in der feuchten Kammer bei Anwendung des heizbaren Objecttisches erfordern eine ganz ausserordentliche Geduld und enorm viel Zeit, wenn die Bakterien so klein sind, dass man nur mit homogenem Systeme arbeiten kann. Eine absolut nothwendige Vorbereitung ist die Beobachtung von grösseren Bakterienarten unter denselben Verhältnissen unter Anwendung starker Trockensysteme.

Andauernde directe Beobachtungen kann man sich etwas erleichtern durch Anwendung des von Engelmann angegebenen Dunkelkastens, welcher das Mikroskop und den Kopf des Beobach-

[1]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie Bd. II 1885 S. 43.

ters umgiebt, dadurch das Auge gegen das diffuse Licht schützt und das Licht nur so eintreten lässt, dass es den Spiegel trifft.

Der Tisch der deutschen Mikroskope lässt im Allgemeinen noch viel zu wünschen übrig und die Einfachheit geht oft bis zur Unbrauchbarkeit. An den grösseren Instrumenten wenigstens sollte, vielleicht nach dem Muster der neuesten Stative von Beck in London, einige technische Verbesserungen nicht mehr fehlen, gegen die sich manche unserer Mikroskopiker nur deshalb sträuben, weil das, was bei uns und in Frankreich bisher in dieser Hinsicht geleistet war, keinen Vergleich mit der vorzüglichen Arbeit der englischen Stative aushält. Auch die sachlich ganz unmotivirte Aversion gegen die binocularen Mikroskope ist nur bei mangelhafter Ausführung berechtigt. Viele Differenzen über Art der Bewegung, feine Formunterschiede der Bakterien wären längst gelöst, wenn man binoculare Instrumente besässe, welche mit homogenem Immersionssysteme zu benutzen sind, wie es Beck jetzt schon zum Theil mit Wasserimmersion gelungen ist. Auch die starken Trockenlinsen am einfachen oder binocular zu verwerthenden Tubus sollten für die directe Beobachtung in der feuchten Kammer noch Verbesserungen erfahren können, wie es die besten Trockensysteme von Powell und Lealand als zum Theil wenigstens ausführbar erweisen. Diese Bemerkungen sind natürlich nur Wünsche für das wissenschaftliche Studium der Mikroorganismen.

Färbung der Bakterien.

Die ungefärbten Bakterien werden beobachtet unter Anwendung von Blenden, um das Structurbild deutlich zu erhalten. Sind aber in einem durch sein Structurbild kenntlich gemachten Gewebe oder ähnlichem grösseren Objecte kleine Partikel z. B. von der Grösse von Bakterien eingelagert, so werden diese Partikel durch die Schatten des Structurbildes verdeckt. Sind diese Partikel gefärbt, so werden sie trotz der Schatten bei einer gewissen Grösse in Folge ihrer Färbung noch sichtbar bleiben. Unter einer gewissen Grösse werden sie aber schliesslich trotz der Färbung durch die Schatten des Structurbildes verdeckt. Es gilt deshalb die Bakterien zu färben

und die Beleuchtung so einzurichten, dass das Structurbild nicht mehr stört, sondern das Farbenbild möglichst rein, isolirt, zur Beobachtung kommt.

Diese Isolirung des Farbenbildes erreichte Koch l. c. indem er die Blenden entfernte. Dadurch wurde ein schwaches Structurbild schon so aufgehoben, dass das Farbenbild selbst kleinster Partikel deutlich wurde. Bei stärkeren Structurbildern erreichte er das aber erst als er unter Entfernung der Blenden einen Condensor anwandte, welcher einen so intensiven Lichtkegel auf das Object warf, „dass die Diffractionserscheinungen gänzlich zum Verschwinden gebracht“ wurden.

Bei solcher Beleuchtung, bei der „das Präparat in allen Richtungen gleichzeitig von einfallenden Strahlen durchsetzt“ wird, „bleiben im Bilde allein diejenigen Elemente sichtbar, die in Folge von Tinction absorbirend wirken“. Weiter gewinnt hierdurch noch Abbé die Beobachtung, „obwohl die Beleuchtung dem Namen nach central bleibt, die wesentlichen Vortheile der schiefen Beleuchtung durch die Mitwirkung von Strahlen in grosser Neigung gegen die Axe des Mikroskops.“

Wegen dieses Mitwirkens der schiefen Beleuchtung bei isolirtem Farbenbilde und zur vollen Entwicklung des hierzu erforderlichen Unterscheidungsvermögens der Objective für homogene Immersion, welches nach Stephenson durch den grossen Oeffnungswinkel der Objective erreicht wird, muss der Beleuchtungsapparat einen Strahlenkegel von mindestens gleicher Appertur liefern. Dies wird in einer allen Anforderungen entsprechenden Weise bis jetzt nur durch den Abbé'schen Beleuchtungs-Apparat erreicht. Um das Structurbild trotz dieses Condensors benutzen zu können, ist an vielen Instrumenten eine Vorrichtung zum Einschalten von Blenden angebracht, die man in verschiedener Grösse vorräthig halten muss, während an anderen die Einrichtung getroffen ist, dass der ganze Beleuchtungsapparat schnell gegen gewöhnliche Beleuchtung und Blendung ausgewechselt werden kann.

Zur Bakterienforschung gehört neben den Systemen für homogene Immersion ein Abbé'scher **Beleuchtungs-Apparat.** Hin und wieder kann es selbst nothwendig werden zwi-

schen Beleuchtungs-Apparat und unterer Seite des Objectträgers einen Tropfen Wasser oder Immersionsflüssigkeit einzuschalten, so dass unten und oben continuirliche Verbindung hergestellt ist. Dies sind dann Immersions-Condensoren, deren man sich schon früher bediente, ehe der Abbé'sche Apparat construirt war.

Allgemeine Principien der Färbung.

Seit Hartig (1854) und Gerlach (1858) durch systematische Anwendung des Carmins in der histologischen Technik gezeigt haben, dass durch Anwendung von Farben bestimmte Bestandtheile von Geweben deutlicher erkannt und von anderen Bestandtheilen differenzirt werden können, betrachtet man die Färbungen als Aequivalent chemischer Reactionen.[1]) Weigert[2]) gelang es zuerst Kokken-Zoogloea durch Anwendung von kernfärbendem, ammoniakalischem Carmin und Nachbehandlung mit Salzsäure-Glycerin neben den Kernen zu färben. Die Färbung war zwar zuerst von Weigert als Färbung der Zwischensubstanz aufgefasst worden, was von ihn später berichtigt wurde, aber es war hiermit der Weg gezeigt, die Bakterien nicht nur negativ, durch ihre grössere Resistenz gegen Säuren und Alkalien, zur Anschauung zu bringen. Im folgenden Jahre gelang es Eberth und Wagner Kokken, nicht aber Bacillen, mit Hämatoxylin zu färben. Dann ermittelte Weigert[3]), dass sich Kokken, besonders in Zoogloea, durch verschiedene Kernfärbemittel färben liessen; zu diesem Zwecke benutzte er damals zuerst eine kernfärbende Anilinfarbe, das Methyl-Violett. Durch Nachbehandlung der mit Hämatoxylin gefärbten Präparate, in denen Kokken und Kerne blau gefärbt waren, mit verdünnter Kalilauge und starker Essigsäure gelang Weigert zuerst eine isolirte Färbung der Kokken. Weiter beobachtete

---

[1]) Ueber Geschichte der Färbung, Farben im Allgemeinen, Chemie, Technologie etc. cf. Gierke: Färberei zu mikroskopischen Zwecken. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie I, 1884, S. 62, 372, 497. II, 1885, S. 13. 164.

[2]) Ueber Bakterien in der Pockenhaut. Centralblatt f. d. med. Wissenschaft 1871, No. 49.

[3]) Sitzung der Schlesischen Gesellschaft für vaterländische Cultur, vom 10. December 1875.

Weigert[1]), dass grössere Bacillen, welche durch Hämatoxylin nicht gefärbt wurden, durch gewisse Anilinfarben kenntlich gemacht werden konnten. Bald darauf fand Koch[2]), dass die Bakterien die Anilinfarben mit einer solchen Sicherheit so schnell und so reichlich aufnehmen, „dass man diese Farben als Reagens zur Unterscheidung der Bakterien von krystallinischen und amorphen Niederschlägen auch von feinsten Fetttröpfchen und anderen kleinsten Körpern benutzen kann." Die isolirte Färbung der Bakterien gelang Koch[3]) durch Auswaschen der Schnitte mit kohlensaurem Kali, wobei sich alle Bestandtheile ausser den Bakterien entfärben. Schliesslich gelang es Weigert[4]) Doppelfärbungen zu erzielen, indem er die mit blauen Anilinfarben behandelten Präparate mit kernfärbendem Pikrocarmin nachbehandelte, wodurch die Bakterien blau und die Kerne roth erschienen, und Koch[5]) gelang es, eine bestimmte Bakterienart anders zu färben als die Kerne und die übrigen gleichzeitig vorhandenen Bakterien.

Welche Farben soll man zur Bakterienfärbung wählen? Weigert's Beobachtung, dass sich die Kokken, nicht aber die Bacillen, in Carmin färben, die ähnliche Beobachtung von Eberth und Wagner über das Hämatoxylin, schienen nach Weigert zuerst durchgreifende chemische Differenzen zwischen den einzelnen Formgruppen von Cohn anzudeuten. Auch Safranin, eines der besten Mittel zum Studium der Kerne, ist für Kokken besser als für die übrigen Bakterien verwerthbar. Weiter ermittelte Obermeyer[6]), dass die Spirochäten gegen Säuren und Alkalien weniger resistent sind als die übrigen Bakterien. Aber diese Differenzen sind keine durchgreifenden, da es Kokken und Bacillen gibt, welche

---

1) Berl. klin. Wochenschrift 1877, No. 18/19, und Bericht über die Münchener Naturforscherversammlung 1877, S. 283.

2) Verfahren zur Untersuchung, zum Conserviren und Photographiren der Bakterien. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. II, 3. Heft 1877, S. 399.

3) Wundinfectionskrankheiten 1878, S. 39.

4) Zur Technik der mikroskopischen Bakterienuntersuchungen. Virchow's Archiv 1881, Bd. 84, S. 275.

5) Berl. klin. Wochenschrift 1882, No. 15.

6) Berl. klin. Wochenschrift 1873, S. 391.

Alkalien und Säuren gegenüber weniger resistent sind als andere, da es Bacillen gibt, welche sich mit Hämatoxylin eben so gut oder eben so schlecht färben wie Kokken. Dagegen haben sich sowohl für die Deckglas-Trockenpräparate als für die Schnitte **die basischen Anilinfarben** als unter allen Umständen brauchbare Farben erwiesen, so dass wir dieselben in erster Linie zur Bakterienfärbung verwerthen und andere Farben vorwiegend zu secundären Zwecken anwenden.

Ehrlich[1]) unternahm es dann, zum Theil in Verbindung mit seinen Schülern Schwarze und Westphal, die Farben der mikroskopischen Technik zu klassificiren. Der Ausgangspunkt dieser farben-theoretischen Studien ist die Beobachtung, dass die verschiedenen Bestandtheile der Gewebe und Zellen die Fähigkeit besitzen, bestimmte Farben allein aufzunehmen oder mit grösserer Hartnäckigkeit festzuhalten als andere Gewebselemente. Diese „Election", diese Verwandtschaft der Farben zu gewissen Elementen verleiht den Färbungen den Werth chemischer Reactionen oder, wie es richtiger heissen sollte, zeigt in Ermangelung chemisch präcise definirbarer Reactionen dem Auge das Vorhandensein von sonst nicht oder schwer wahrnehmbaren Differenzen an. Manche Farben färben zunächst viele Bestandtheile eines Gewebes ganz diffus, so dass Einzelheiten nicht genügend zu erkennen sind. Lässt man dann gewisse Extractionsmittel der Farben einwirken, so entziehen diese einzelnen Elementen die Farbe wieder, während andere Elemente trotzdem die Farbe hartnäckig festhalten. In diesen Fällen wird die Möglichkeit „gewisse Elemente ad maximum zu färben, alles Andere aber möglichst ungefärbt zu lassen" erst durch einen Umweg erreicht. Ehrlich nannte diese von Friedländer[2]) bei anderer Gelegenheit zuerst angewandte Methode das „Princip der maximalen Entfärbung."

---

[1]) Zeitschrift für klin. Medicin, Bd. I. 1880, S. 553 und kleinere gelegentliche Mittheilungen.

Schwarze: Ueber eosinophile Zellen. Dissert. Berlin 1880.

Westphal: Ueber Mastzellen. Dissert. Berlin 1880.

[2]) Studien über automatische Herzbewegung; in: Untersuchungen aus dem physiologischen Institut zu Würzburg, I., 1867.

Histologisch muss man an jedem Farbstoffe zwei Eigenschaften auseinanderhalten: 1. die Election, die Verwandtschaft zu gewissen Elementen und 2. die tinctoriale Kraft.

In Bezug auf die Election theilt Ehrlich die Anilinfarben in zwei Gruppen: a) die sauren, b) die basischen Anilinfarben, je nachdem das färbende Princip die Säure oder die Farbbase ist; in diesem histologischen Sinne ist es gleichgültig, ob die Säure als freie Säure oder als Salz und ebenso ob die Base als solche oder als Salz zur Anwendung kommt.

Die sauren Anilinfarben zerfallen in 4 Klassen:

1. Fluorescine, z. B. Fluorescin, Eosin;
2. Nitrokörper, wie Martiusgelb, Pikrinsäure, Aurantia;
3. Sulfosäure, wie Tropaeolin;
4. primäre Farbsäuren: Rosolsäure, Alizarin, Purpurin.

Von den basischen Anilinfarben finden am meisten Anwendung Fuchsin (salzsaures Rosanilin), Methylviolett (salzsaures Trimethylrosanilin), Gentianaviolett, Methylenblau, Vesuvin; seltener Methylgrün, Cyanin, Safranin, Magdala, Dahlia. Von denselben haben besonders die violetten (Methylviolett, Gentianaviolett, Jodviolett, Dahlia) die bisweilen zu Doppelfärbungen verwerthbare Fähigkeit metachromatischer Färbung, d. h. sie tingiren gewisse Elemente in einer von der Grundfarbe abweichenden Farbennuance. Methylviolett z. B. färbt die amyloide Substanz nicht violett wie die Bakterien und Kerne, sondern roth; Methylgrün färbt die Kerne grün, die amyloide Substanz violett.

Die Körper der ersten Gruppe zeigen sämmtlich dieselben electiven Eigenschaften, d. h. sie wirken als Farbsäuren und tingiren alle diesen zugängliche Elemente, aber in verschiedenem Grade. Ebenso zeigen die basischen Anilinfarben dieselben electiven Eigenschaften, indem sie die den basischen Farben zugänglichen Elemente färben; aber auch bei ihnen ist die Intensität der Färbung eine differente. Diese Intensität der Färbung wird bedingt durch die tinctoriale Kraft und diese beruht wesentlich darauf, dass die verschiedenen Farbstoffe der einzelnen Gruppen Extractionsmitteln gegenüber, wie Alkohol, Essigsäure, Glycerin, in verschiedenem Grade von den Gewebs- resp. Zellelementen zurückgehalten werden. So wird

z. B. Methylgrün durch Alkohol den Präparaten schon in kurzer Zeit vollständig entzogen, während Vesuvin fast ganz im Präparate bleibt. In Bezug auf diese tinctoriale Kraft lassen sich die basischen Anilinfarben derart etwa ordnen, dass die braunen Farben, Vesuvin, Bismarkbraun, Anilinbraun theoretisch die höchste Stufe einnehmen sollten, weil diese Farben selbst durch Glycerin nicht extrahirt werden, und sich diese Färbungen gleichzeitig zur Photographie eignen. Darauf folgen in absteigender Linie, aber wegen der den Meisten angenehmeren gesättigten Farben dem Braun meist vorgezogen, Fuchsin, Methylviolett, Gentianaviolett, Methylenblau; die übrigen Farben haben bis jetzt noch keine so universelle Verwendung gefunden. Diese Skala hat jedoch, wie ich zur Vermeidung von Missverständnissen bemerken will, nur eine bedingte Gültigkeit und in bestimmten Lösungsmitteln und zu bestimmter Nachbehandlung zieht man bestimmte Farben vor, wie später noch specieller angegeben wird. Ebenso ist nicht ausgeschlossen, dass sich unter den übrigen Farben vielleicht noch die eine oder andere eine grössere Beliebtheit erringen kann.

Praktisch ist jetzt der Werth der braunen Farbe nicht mehr so hoch anzuschlagen, seit es möglich ist mit Hülfe der sogenannten isochromatischen Platten auch die übrigen Farben zur Photographie zu verwenden. Besonders die Färbungen mit Fuchsin haben dadurch bedeutend an Werth gewonnen, weil sie nicht nur zur Untersuchung bei den verschiedensten Modificationen der Färbemethoden brauchbar sind, sondern auch bei der Photographie ebenso gute Bilder liefern wie die braunen Farben, so dass zur Zeit Fuchsin die erste Stelle unter den Anilinfarben einnimmt. Wegen einiger technischer Schwierigkeiten in der Behandlung der isochromatischen Platten empfiehlt es sich aber noch immer zu photographischen Zwecken die hierzu bequemeren Farben, wässerige Lösungen von Vesuvin oder Glycerinbraun anzuwenden und die unbequemeren isochromatischen Platten dort zu verwenden, wo mit den braunen Farben die betreffenden Färbungen überhaupt nicht zu erreichen sind, wie z. B. bei den Bacillen der Tuberculose.

Die basischen Anilinfarben sind löslich in Wasser und die meisten in einem oder sämmtlichen Extractionsmitteln. Bei An-

wendung schwacher wässeriger Lösungen färbt sich zuerst die Intercellularsubstanz und der Zellleib, während die Kerne ungefärbt bleiben. Durch Nachbehandlung mit Alkohol, Glycerin oder Essigsäure tritt eine „Inversion der Färbung" ein, indem die vorher gefärbten Elemente farblos werden, während die vorher farblosen Kerne gefärbt erscheinen. Bei Anwendung stärkerer Lösungen erfolgt die Färbung, ohne Deutlichwerden dieser Inversion, direct und schnell und im Allgemeinen um so intensiver je concentrirter die Lösung ist, und bei ganz concentrirten wässerigen Lösungen kann selbst eine Ueberfärbung eintreten, welche bei Schnittpräparaten durch nachträgliche Extraction auf das richtige Maass zu reduciren ist. Nur Methylenblau überfärbt nach Ehrlich[1]) auch nach langer Einwirkung nicht, ist also anzuwenden, wenn aus besonderen Gründen keine Extractionsmittel Anwendung finden sollen. Löst man die Farben in den Extractionsmitteln, absolutem Alkohol, Eisessig, dickem Glycerin auf, so färben sie wenig oder gar nicht.

Statt durch wässerige Lösungen überfärbte Präparate durch nachträgliche Extraction auf das richtige Maass der Färbung zurückzuführen, kann man für viele Fälle von vornherein zur Lösung der Farbe eine Mischung von Wasser mit Alkohol (Herrmann) oder Glycerin (Schäfer) oder Essigsäure (Ehrlich) oder auch von Wasser mit Alkohol, Glycerin und Eisessig in verschiedenen Verhältnissen anwenden.

Herstellung der Farblösungen.

Die basischen Anilinfarben finden in folgender Weise Anwendung:

1. Concentrirte wässerige Lösungen. Dieselben werden entweder direct benutzt oder in beliebigem Grade mit destillirtem Wasser verdünnt. Die Lösungen werden mit ausgekochtem destillirtem Wasser bereitet derart, dass noch ein Ueberschuss an Farbstoff ungelöst bleibt. Diese Lösungen müssen öfters filtrirt werden. Von diesen wässerigen Lösungen ist kein grösserer Vorrath anzulegen.

---

[1]) Zeitschrift f. klin. Med., Bd. II. 1881, S. 710.

2. Concentrirte alkoholische Lösungen. Die Lösung eines Ueberschusses von Farbstoff erfolgt am besten mit absolutem Alkohol oder in Ermangelung desselben mit dem officinellen 90 %igen Spiritus der Pharmacopoe. Im Allgemeinen kann man ca. 20 bis 25 gr Farbstoff auf 100 gr Spiritus oder Alkohol rechnen. Diese Lösungen werden vorräthig gehalten und dienen nicht direct, sondern in bestimmter Mischung mit destillirtem Wasser zur Färbung. Statt der concentrirten wässerigen Lösungen kann man sie verwenden, wenn man 5 bis 6 Tropfen zu einem kleinen Uhrglase mit destillirtem Wasser gibt; diese Mischung bezeichne ich im Folgenden kurz als verdünnte alkoholische Lösung.
3. Vesuvin, Bismarckbraun, Anilinbraun sind im Allgemeinen nicht in alkoholischen Lösungen zu verwenden. Können sie nicht in wässerigen, jedesmal zu filtrirenden Lösungen angewandt werden, so wird eine concentrirte Lösung in gleichen Theilen Glycerin und Wasser[1]) hergestellt.
4. Alkalische Lösungen:
   a) schwache von Koch[2]):
      1 ccm concentrirte alkoholische Lösung von Methylenblau;
      200 ccm destillirtes Wasser,
      0,2 ccm einer 10 %igen Kalilauge;
   b) starke von Löffler[3]):
      30 ccm concentrirte alkoholische Lösung von Methylenblau,
      100 ccm Kalilauge 1 : 10000.
5. Anilinwasser nach Ehrlich[4]). Gereinigtes Anilinöl wird in Ueberschuss mit destillirtem Wasser etwa 1 Minute geschüttelt (ca. 5 ccm Anilinöl mit 100 ccm Wasser), dann nach 5 Minuten langem Stehen durch ein vorher mit destillirtem Wasser angefeuchtetes Filter filtrirt. Das Filtrat muss wasserklar sein und dient statt Wasser als Menstruum. Da dieses ge-

---

1) Koch: Verfahren zur Untersuchung. Beiträge zur Biologie der Pflanzen 1877, Bd. II., 3. Heft, S. 406.

2) Berl. klin. Wochenschrift 1882, No. 15; Mittheilungen aus dem Gesundheitsamte 1884, Bd. II., S. 5.

3) Mittheilungen 1884, Bd. II., S. 439.

4) Deutsche med. Wochenschrift 1882, No. 19.

sättigte Anilinwasser sehr schnell herzustellen ist, bereitet man sich dasselbe am besten jedesmal frisch. Will man es haltbar machen, so setzt man demselben nach B. Fränkel 5 bis 10 % Alkohol zu oder löst 3 ccm Anilinöl in 7 cm Alkohol und fügt 90 ccm destillirtes Wasser hinzu. Als Farben haben sich für dieses Menstruum am besten bewährt Fuchsin, Methylviolett und Gentianaviolett.

Für die meisten Fälle ist es am bequemsten, wenn man nach Ehrlich dem klaren Anilinwasser „von einer gesättigten alkoholischen Fuchsin- oder Methylviolettlösung so lange hinzufügt, bis eine deutliche Opalescenz der Flüssigkeit eintritt, die die Sättigung mit Farbestoff anzeigt".

Für bestimmte Zwecke empfiehlt sich bei häufiger Anwendung folgende Modification der Ehrlich'schen Lösung nach Weigert-Koch[1]), welche aber nach 10 bis 12 Tagen erneuert werden muss, weil allmählig ihr Färbevermögen abnimmt:

100 ccm gesättigtes Anilinwasser,
11 ccm concentrirte alkoholische Lösung von Methylviolett oder Fuchsin,
10 ccm absoluter Alkohol.

6. Statt Anilin kann als Menstruum dienen Toluidin, in derselben Weise hergestellt (B. Fränkel[2]), ebenso Terpentin (Prior[3]); ferner 5 %ige wässerige Carbolsäure (Ziehl[4]) oder 1/2 %iges Ammoniak (Weigert[5]), ebenso Borax (Sahli[6]).

Die betreffenden Lösungen werden in folgender Form verwendet:

a) Ammoniak:	Liq. ammon. caust.	0,5
	Alkohol absolut.	10,0
	Aq. dest.	90,0
	Gentianaviolett	2,0

1) Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. II. 1884, S. 6.
2) Berl. klin. Wochenschrift 1884, No. 13.
3) Berl. klin. Wochenschrift 1883, No. 33.
4) Deutsche med. Wochenschrift 1882, S. 451. 1883, S. 12 und 247.
5) Deutsche med. Wochenschrift 1883, S. 351.
6) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie 1885, Bd. II. S. 49.

b) Carbolsäure, modificirt von Neelsen [1]):

	Fuchsin	1,0
	Alkohol absolut	10,0
	5 % wässerige Carbolsäure	100,0
c) Borax:	Destillirtes Wasser	40,0
	Gesättigte wässerige Lösungen von Methylenblau	24,0
	5 % Boraxlösung	16,0

(Mischen, einen Tag stehen lassen und dann filtriren.)

Für Doppelfärbungen können noch in Frage kommen kernfärbende Carmine und Hämatoxylin [2]), ersteres für blau oder violett, letzteres für roth gefärbte Bakterien und von den saueren Anilinfarben besonders Eosin in verdünnter alkoholischer Lösung für blau oder violett gefärbte Präparate.

Statt eines der gewöhnlichen kernfärbenden Carmine kann man für blau gefärbte Bakterienpräparate Pikrocarmin benutzen, welches die Kerne intensiv, die fibrilläre Substanz des Bindegewebes schwach roth und die protoplasmatischen Substanzen mehr oder wenig gelb färbt, so dass eine dreifache Färbung resultirt.

Hämatoxylin verwendet man am besten in folgender Form:

Hämatoxylin	2,0
Alkohol	100,0
Aq. dest.	100,0
Glycerin	100,0
Alaun	2,0

Dieses Hämatoxilin färbt Kokken und manche Bacillen und gleichzeitig auch etwa deren Zoogloea. Die Färbung der Bakterien ist schwächer als die durch blaue oder violette basische Anilinfarben, welche dagegen die Zoogloea nicht färben.

Um dreifache Färbungen zu erhalten, nachdem die Bakterien durch Fuchsin roth gefärbt sind, empfiehlt es sich nach der blauen Kernfärbung mit Hämatoxylin die protoplasmatischen Substanzen noch nachzufärben mit gesättigter Lösung von Pikrinsäure oder mit Eosin;

1) cfr. Johne, Fortschritte der Medicin 1885, No. 7, S. 200.

2) cfr. die citirten Handbücher, besonders Friedländer.

das rosaroth färbende Eosin kann man der obigen Hämatoxylinlösung gleich in 0,5 %iger Stärke zusetzen. (Bei Pikrinsäure muss zur Erhaltung des gelben Tones Pikrinalkohol und Dammarharz angewendet werden).

Alle jemals angewendeten Färbemethoden oder richtiger alle unter dem Namen besonderer Methoden auftretenden Modificationen in Form von Recepten aufzunehmen, hielt ich für ganz überflüssig. Die bewährten Vorschriften sind so eingehend dargelegt, dass von ihnen ausgehend wohl Jeder im Stande sein wird, die für bestimmte Fälle nöthigen Abweichungen selbst herauszuarbeiten. Die mir nach dieser Richtung von Cornil und Babes[1]) gemachten Vorwürfe scheinen mir sehr wenig motivirt, da ich nicht nur französische Färbevorschriften weggelassen, sondern ebenso gut unter den bei Weitem zahlreicheren deutschen und englischen Vorschriften nur eine sehr beschränkte Auswahl getroffen habe. Für andere Färbungen verweise ich auf Gierke l. c. und Plaut[2])

Andere Reagentien und Utensilien.

Von anderen Lösungen kommt öfters in Frage:

a)	Jod	1,0
	Jodkalium	2,0
	Dest. Wasser	300,0

b) Bei Anwendung der basischen Anilinfarben ist eine Entfettung selten nöthig. Soll eine Entfettung vorausgehen, so werden die Schnitte erst in absolutem Alkohol entwässert (5 bis 10 Minuten), dann werden die Schnitte in ein Uhrschälchen mit Aether und Chloroform einige Minuten übertragen, darauf wieder in Alkohol und nun nach Aufhellen in Essigsäure zur Auflösung der durch coagulirtes Eiweiss veranlassten Trübung direct untersucht, oder erst in die Farblösung gebracht.

c) Salpetersäure, Salzsäure und Schwefelsäure werden in ca. 25 % wässeriger Lösung gebracht.

---

1) Les bacteries et leur rôle dans l'anatomie et histologie pathologiques des maladies infectieuses. 1885.

2) Färbungs-Methoden zum Nachweis der fäulnisserregenden und pathogenen Mikroorganismen, 2. Aufl. 1885.

d) Zum etwaigen Entkalken dient folgende öfters zu wechsende Flüssigkeit nach von Ebner:

Salzsäure	0,5
Alkohol	100,0
Aq. dest.	20,0
Chlornatrium	0,5

e) Essigsäure dient in $^1/_2$ bis 1 $^0/_0$ iger Lösung zur Erzielung der maximalen Entfärbung und zum Aufsuchen ungefärbter Bakterien.

f) Chromsäure findet Verwendung in $^1/_2$ $^0/_0$ iger Lösung oder als Müller'sche Lösung:

Kali bichrom.	2,0
Natron sulf.	1,0
Aq. dest.	100,0

g) Kalium und Natriumhydrat werden verwendet in 1 bis 3 $^0/_0$ iger Lauge zum Sichtbarmachen ungefärbter Bakterien oder indem man 1 bis 2 Tropfen der sonst in der Histologie viel gebrauchten 33 $^0/_0$ igen Kali- oder Natronlauge zu einem Uhrschälchen Wasser giebt.

h) Glycerin und Alkohol sind immer in reinstem, völlig säurefreiem Material zu verwenden.

i) Destillirtes Wasser, welches zu bakteriologischen Arbeiten dient, ist immer vorher durch stundenlanges Kochen oder in einem der Sterilisirungsapparate zu sterilisiren, da das gewöhnliche destillirte Wasser immer Bakterien und deren Keime enthält. Alle zur Bakteriologie dienenden Lösungen sind mit sterilisirtem, destillirtem Wasser anzusetzen und alle Lösungen und Reagentien vor ihrer Anwendung auf etwaigen Gehalt an Bakterien zu prüfen.

Zum Aufbewahren der Lösungen dienen Flaschen mit eingeschliffenen Stöpseln und für den Tagesbedarf sehr bequem kleine Glasflaschen, deren eingeschliffener hohler Stöpsel oben mit Gummikappe versehen ist und unten in eine Capilare ausläuft, welche gestattet, beliebig grosse und beliebig viele Tropfen sauber zu entnehmen.

Zum Conserviren von Bakterienpräparaten kann Glycerin nur bei den braunen Farben dienen, weil es die übrigen

Anilinfarben mehr oder weniger schnell extrahirt; für die braune Farbe kann man die Klebs'sche Glycerin-Gelatine anwenden.

Von concentrirten Lösungen von essigsaurem Kali (1:2) kann man zum Conserviren gefärbter und ungefärbter Bakterienpräparate oft vortheilhaft Gebrauch machen.

Das universellste hierher gehörige Conservirungsmittel ist der Canadabalsam, den man sich sehr bequem in durch Terpentin oder Xylol flüssigem Zustande in Tuben hält. Zum Verdünnen des Canadabalsam kann nur Terpentin oder Xylol dienen, weil Chloroform die basischen Anilinfarben extrahirt. Aus demselben Grunde hat man sich davor zu hüten den Balsam zu erwärmen.

Zum Aufhellen ist wegen desselben Umstandes das beliebte Nelkenöl möglichst zu vermeiden und statt desselben Terpentinöl, Cedernholzöl oder Bergamottöl zu verwenden.

An Utensilien bedarf man ausser guten Objectträgern und Deckgläschen Uhrgläser, gewöhnliche und mit plangeschliffenem Boden, Porzellanschälchen.

Crystallisationsschalen verschiedener Grösse, am besten zwei Grössen, von denen die grössere gleichzeitig als Deckel für die kleinere Nummer verwerthet werden kann.

Bechergläser verschiedener Grösse, Kolben, Reagirgläser, Trichter, Spritzflaschen, Maasscylinder, Pipetten.

Eine Platte von schwarzem Glase oder Porzellan als Unterlage für weisse und ungefärbte Objecte; eine Platte von Milchglas oder weissem Porzellan als Unterlage für gefärbte Objecte.

Glasröhren, von denen einige an einem Ende zur Capillare ausgezogen sind.

Glasstäbe: in einige Glasstäbe von 10 bis 15 cm Länge werden an einem Ende unter Erwärmen in der Flamme 3 bis 5 cm lange Stückchen Platindraht verschiedener Stärke eingeschmolzen, indem man das eine glühend gemachte Ende etwa $^1/_2$ bis 1 cm tief in das erwärmte zähflüssige Ende des Glasstabes einstösst. Diesen Platindraht lässt man bald gerade, bald biegt man das freie Ende rechtwinklig oder zu einer Oese. Ferner bedarf man oft einer Tiegelzange und mehrerer Schieberpincetten; an einer derselben biegt man vortheilhaft die Branchen etwas auseinander und armirt sie mit

platten Korkplättchen zum Anfassen der Deckgläser. Improvisiren kann man eine Schieberpincette, indem man über eine gewöhnliche Pincette einen möglichst engen Korkring streift. Von Metallinstrumenten bedarf man noch einiger Präparirnadeln, Scheeren, Messer und breiter Spatel von Messing, Stahl oder Platin, auf denen die Schnitte ausgebreitet werden zum Uebertragen von einer Flüssigkeit in eine andere.

Neue Objectträger und Deckgläser werden mit warmem Wasser gereinigt und mit einem feinen Leinwandlappen getrocknet. Genügt dies nicht, so reicht meist ein nochmaliges Abreiben mit einem in Spiritus getauchten Läppchen aus. Um flache hängende Tropfen herzustellen, ist es oft nöthig, auch die scheinbar saubersten Deckgläschen einige Stunden in absolutem Alkohol liegen zu lassen, den Rest des Alkohols mit Aether aufzunehmen und diesen durch Verdunsten zu entfernen.

Gebrauchte Objectträger und Deckgläschen werden in concentrirte Salzsäure (oder Salpeter- oder Schwefelsäure) gelegt, und zum Reinigen nach der Entfernung aus der Säure so lange mit Wasser abgespült, bis jede saure Reaction geschwunden ist und dann wie neue weiter behandelt.

Deckglas-Präparate.

Nachdem schon früher beobachtet war, dass die morphologischen Elemente des Blutes in dünner Schicht angetrocknet sich nicht wesentlich ändern, verwandte Koch [1]) diese mehr zufälligen Beobachtungen zuerst methodisch zur Bakterien-Forschung. Er breitete ein Tröpfchen der bakterienhaltigen Flüssigkeit auf einem Deckglase zu einer ganz dünnen Schicht aus, wodurch die einzelnen Elemente annähernd in eine Ebene gebracht wurden. Diese dünne Schicht wurde dann durch einfaches Trocknen an der Luft fixirt. Um kleine Gestaltsveränderungen, welche dabei auftraten, wieder aufzuheben, wurde es nöthig, nachträglich wieder eine Quellung eintreten zu lassen. Blieb die lufttrockene Schicht aber zu lange

[1]) Verfahren zur Untersuchung etc. Beiträge zur Biologie der Pflanzen 1877. II. 3. Heft. S. 399.

in dem hierzu benutzten Wasser oder Glycerin, so löste sie sich ganz auf, statt nur etwas aufzuquellen.

Wurde das Deckgläschen mit der lufttrockenen Schicht in absoluten Alkohol oder 0,5 % ige Chromsäure gelegt, so wurde die Schicht unlöslich in Wasser und Glycerin, aber sie quoll nicht mehr genügend auf. Wurde aber die unlöslich gewordene Schicht in essigsaures Kali gebracht, so quoll sie genügend auf ohne sich abzulösen, und alle Formen erschienen so wie im natürlichen Zustande. Ebenso wirkten die Lösungen der Anilinfarben, welche die erwünschte Quellung hervorriefen ohne die Schicht abzulösen und noch ausserdem die Bakterien färbten.

Bei Anwendung dieser Methode auf die Blutuntersuchungen fand Ehrlich[1]), dass das schnelle Antrocknen eine Coagulation der Zellalbuminate ausschloss und die natürliche Färbbarkeit der Elemente erhalten blieb; nur das Hämoglobin wurde durch die wässerigen und glycerinigen Farblösungen extrahirt. Wurden aber die Präparate eine bis mehrere Stunden einer Temperatur von 115 bis 125° ausgesetzt, so hatten alle Elemente des Blutes ohne wesentliche Alteration, ohne Auftreten von Kunstprodukten, ihr electives Färbevermögen behalten. In Folge dieser Beobachtungen wandte Koch, statt des umständlichen Fixirens durch Alkohol, das Erhitzen auch auf die Bakterienpräparate an[2]), aber nur wenige Minuten.

Ein Tröpfchen der bakterienhaltigen Flüssigkeit wird je nach der Menge der morphologischen Bestandtheile unverdünnt oder unter Zusatz eines Tröpfchens destillirten Wassers mit einem ausgeglühten Skalpell oder Platindraht zu einer flachen Schicht auf dem Deckglase ausgebreitet und ein Ueberschuss von Flüssigkeit event. vom Rande her mit Fliesspapier abgesaugt. Oder man legt auf das Deckgläschen mit dem Tröpfchen ein zweites Deckgläschen, welches durch seinen Druck die Schicht gleichmässig flach ausbreitet. Zieht man dann mit Pincetten beide Deckgläschen von einander, so hat man gleich zwei Präparate. Das Deckgläschen bleibt, gegen Staub ge-

---

[1]) Zeitschrift f. klin. Med. Bd. I., S. 553.

[2]) Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1881, Bd. I. S. 1.

schützt, bis zum völligen Trockensein ruhig stehen oder kann in einem Exsiccator etwas schneller getrocknet werden. Beschleunigen kann man das Antrocknen auch, indem man das mit der Pincette gefasste Deckgläschen, mit der Präparatenseite nach oben, hoch über der Gasflamme, gegen deren directe Wirkung geschützt, hin und her bewegt.

Will man ganze Colonien in situ auf einem Deckgläschen präpariren, so kann man einen an der unteren Seite des Deckgläschens hängenden Tropfen von Nährlösung oder Nährgelatine in später zu schildernder Weise impfen und lässt nach eingetretenem Wachsthum die ganze Schicht langsam antrocknen oder man lässt ein sterilisirtes Deckgläschen vorsichtig auf eine Colonie fallen und versucht schonend die Colonie mit dem Deckgläschen abzuheben. Das Antrocknen muss sehr vorsichtig im Exsiccator, weniger gut über der Flamme geschehen.

Schon auf die so getrocknete Schicht kann man zum Färben einen Tropfen der Farblösung geben, aber nur für den Fall, dass die Flüssigkeit eiweissfrei ist und die Färbung schnell erfolgt, da bei längerer Einwirkung die Schicht allmählich ganz losgelöst wird. War die nur angetrocknete Schicht eiweisshaltig, Blut, Gewebssaft, Sputum, so entstehen bei Zusatz der Farblösung ausserdem Niederschläge.

Es wird deshalb meist nöthig, die lufttrockne Schicht durch Erhitzen sicher zu fixiren. Man kann zu diesem Zwecke die Deckgläschen mit der angetrockneten Schicht in einen Trockenschrank bringen oder auf eine Kupferplatte legen. Ein solches Kupferblech legt man auf einen Dreifuss und erhitzt dasselbe an einem Ende durch eine Gasflamme, so dass die verschiedenen Theile, je nach dem sie näher oder entfernter von der Flamme sind, verschieden hohe Temperaturen annehmen. Für Bakterienpräparate genügen einige Minuten bei 125 bis 130° C. oder 10 bis 20 Minuten bei 110°.

Noch bequemer, und bei einiger Uebung auch eben so sicher, ist es nach Koch-Löffler, wenn man das Deckgläschen mit der angetrockneten Schicht nach oben dreimal mässig schnell durch eine Gas- oder Spiritusflamme zieht.

Der Grund hierfür liegt nach Koch[1]) in der Beobachtung, dass bei den nicht erhitzten Präparaten die oben geschilderten Missstände sich bemerkbar machen, bei ein- bis zweimaligem Durchziehen die Fixirung, besonders bei starkem Eiweissgehalt, nicht für alle Fälle genügt, während bei dem dreimaligen Durchziehen durch die Flamme die Formen sich nicht wesentlich ändern, ihre Färbbarkeit behalten und die Albuminate so unlöslich geworden sind, dass sich keine Niederschläge mehr bilden; noch öfteres Durchziehen setzt die Färbbarkeit für die Bakterien wieder herab (cfr. Sporen-Färbung). Das Misslingen der Präparate, welches erst nach einiger Uebung aufhört, scheint wesentlich darin begründet, dass die Präparate von Anfängern meist schon erhitzt werden, ehe sie vollständig lufttrocken geworden sind. Waren die Präparate noch etwas wasserhaltig, so tritt Coagulation der Albuminate ein, während bei vollständig wasserfreien Präparaten dies nicht geschieht, sondern das Eiweiss durch das Erhitzen „homogenisirt“ wird.

Das lufttrockene und dreimal durch die Flamme gezogene Präparat wird nun gefärbt. Man legt das Deckgläschen mit der Präparatenseite nach oben auf ein Stück Fliesspapier und bringt mit einem Glasstabe oder der Capillarröhre oder dem zur Capillare ausgezogenen Glasstöpsel einige Tropfen Farblösung auf das Präparat. Die Farblösung bleibt eine bis zwanzig Minuten darauf, indem man durch Neigen des Deckglases sieht, ob das Präparat schon Farbe angenommen hat. Soll die Farblösung länger einwirken, so bringt man nicht die Farblösung tropfenweise auf das Deckglas, weil sich beim Trocknen am Rande des Farbtropfens ein schwer entfernbarer Farbenring bildet, sondern man gibt eine entsprechend grössere Menge der Farblösung in ein Uhrglas oder Crystallisationsschälchen. Dann fasst man das Deckgläschen, die Präparatenseite nach unten gekehrt, lose zwischen Daumen- und Zeige- oder Mittelfinger, und lässt es flach auf die Oberfläche der Farblösung fallen, so dass es mit der Präparatenseite auf der Farblösung schwimmt. Zur Verhütung der Verdunstung deckt man dann eine Glasplatte oder eine zweite Schale darüber.

[1]) Mittheilungen 1884. Bd. II, S. 7.

Zur Abkürzung der Färbung kann man die Farblösung erwärmt anwenden, indem man das Schälchen mit Farblösung und schwimmendem Deckglase nach Koch im Trockenschrank auf etwa 50 bis 60° erwärmt, oder nach Rindfleisch das Schälchen mit der Zange fasst und über kleiner Flamme bis zum Auftreten von Blasen erwärmt, oder nach B. Fränkel, indem man das Anilinwasser im Reagirglase aufkocht, dann erst in das Schälchen giesst, die Farblösung zufügt und das Deckglaspräparat auf dieser heissen Farblösung zum Schwimmen bringt.

Zur Entfernung des überschüssigen Farbstoffes richtet man entweder den Strahl einer Spritzflasche, bei schräg gehaltenem Deckglase etwas oberhalb des Präparates, welches direct vom Wasserstrahl nicht getroffen werden darf; oder man schwenkt das mit der Pincette gefasste Deckglas in einem mit destillirtem Wasser gefüllten Becherglase hin und her; oder man saugt den überschüssigen Farbstoff mit Fliesspapier ab, fügt einige Tropfen Wasser hinzu, saugt von Neuem ab und wiederholt dies bis kein Farbstoff mehr an das Fliesspapier abgegeben wird. Dann wird das Deckglaspräparat in einem Tropfen destillirten Wasser untersucht. Die obere Seite des Deckglases wird durch Absaugen mit Fliesspapier oder Blasen mit einer Capillarröhre von jeder Spur Wasser befreit, weil sie den Oeltropfen für die homogene Immersion aufnehmen muss.

Sollen die Deckglaspräparate conservirt werden, so wird das Oel mit Fliesspapier (und event. Chloroform) wieder entfernt, das Wasser durch vorsichtiges Erwärmen oder Stehenlassen (geschützt gegen Staub, event. im Exsiccator) entfernt und das getrocknete Präparat direct in Canadabalsam eingelegt.

Es sind bei jeder Bakterienart verschiedene Farben anzuwenden, da einzelne nur die Bakterien, andere gleichzeitig die feinen Gallerthüllen, andere Kapseln mitfärben. Die entstehenden Bilder sind deshalb nicht bei allen Färbemethoden absolut gleich, so dass es eigentlich selbstverständlich sein sollte, bei Vergleichen immer nur identisch behandelte Präparate zu benützen. Diese Momente müssen bei der Wahl der Farblösung leiten. Man hat dementsprechend zu unterscheiden zwischen der Färbung zu einem

ganz bestimmten Zwecke, zur Nachprüfung oder Anwendung von Färbemethoden, welche für bestimmte Fälle als beste geschildert oder erwiesen sind, und der orientirenden Färbung zum Nachweise der Anwesenheit von Bakterien überhaupt.

Da in Deckglaspräparaten fast alle Bakterien in wässrigen Lösungen der basischen Anilinfarben tingibel sind, so nimmt man zunächst gesättigte wässrige Lösungen oder die gleichwerthigen verdünnten alkoholischen Lösungen.

Die gesättigten wässrigen Lösungen haben für diese Orientirung den Vorzug, für alle bewährten basischen Anilinfarben anwendbar zu sein, so dass man mit wenigen Präparaten schon verschiedene Farben versuchen kann. Hat man trotz der vermutheten Anwesenheit von Bakterien auf diese Weise keine Bakterien zu Gesicht bekommen, so nimmt man Anilinwasser mit Methylviolett oder Fuchsin, oder die starke alkalische Methylenblaulösung.

In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle gestaltet sich demnach die **orientirende Untersuchung** auf Anwesenheit von Bakterien:

1. Antrocknen in dünner Schicht;
2. Fixiren, indem das Deckglas dreimal durch die Flamme gezogen wird;
3. Färben durch einige Tropfen concentrirter wässriger oder verdünnter alkoholischer Lösung basischer Anilinfarben;
4. Entfernen des überschüssigen Farbstoffs durch Abspülen oder Absaugen;
5. Untersuchen in einem Tropfen destillirtem Wasser.

Zur **isolirten Färbung** von Bakterien in Deckglaspräparaten kann man die gefärbten Deckglaspräparate ungefähr 1 Minute in eine zur Hälfte gesättigte Lösung von kohlensaurem Kali legen, oder, wenn sie in Anilinwasser-Gentianaviolett gefärbt waren, die übrigen Elemente nach der Methode von Gram[1]) entfärben. Die gefärbten Deckgläser werden zu diesem Zwecke etwa 1 Minute in die Jod-Jodkaliumlösung (S. 58) gelegt, dann in absoluten Alkohol

---

[1]) Ueber die isolirte Färbung der Schizomyceten. Fortschritte der Medicin II. 1884, No. 6.

gebracht, bis das Präparat entfärbt erscheint; der Alkohol wird abgesaugt und das Präparat in Wasser angesehen.

Bei diesen und den folgenden Färbeverfahren wird immer vorausgesetzt, dass, wenn auch ein Theil der Manipulationen im Stande ist, Formveränderungen der Bakterien herbeizuführen, ein anderer Theil der Manipulationen diesen Fehler wieder aufhebt. Dies ist aber nur in gewissem und nach der Präparationsweise schwankendem Grade der Fall. Besonders die zum Studium mancher Formverhältnisse, z. B. der Gliederung von Scheinfäden und Schrauben vorzugsweise verwendeten Eingriffe wie Antrocknen und der Zusatz der hierzu wichtigsten Reagentien Jod und Alkohol zeigen nicht nur die etwaige Gliederung, sondern wirken sehr entschieden schrumpfend und dadurch auch etwas formverändernd. Man muss in derartigen Fällen den Werth dieser Alterationen durch vergleichende Beobachtungen festzustellen und dieselben womöglich zu compensiren suchen, wie dies z. B. bei der Verwendung von Jod und Alkohol in Form der Gram'schen Methode bis zu einem hohen Grade gelingt.

Um die Kapseln, welche einige Bakterien, z. B. die Pneumonie-Kokken zeigen, sichtbar zu machen, verwendet man nach Ribbert[1]) vortheilhaft eine Mischung aus 100 Wasser 50 Alkohol, $12^1/_2$ Eisessig, welche in der Wärme mit Dahlia gesättigt wird. Die Deckglaspräparate werden eben mit dieser Lösung in Berührung gebracht und sofort in Wasser abgespült. Die Pneumonie-Kokken sind dunkelblau, die Kapseln hellblau, während bei längerer Einwirkung Kokken und Kapseln so tief gefärbt sind, dass die Kokken nicht scharf zu erkennen sind. Um die Kapseln auch durch andere Färbungen leicht zu finden, empfiehlt Friedländer die Gelatinekulturen dieser Bakterien vor der Färbung einige Minuten in warmer Bouillon von ca. 35° zu suspendiren.

Zu **Doppelfärbungen** an Deckglaspräparaten kann man die nach der Gram'schen Methode entfärbten Präparate aus dem Alkohol in eine schwache wässrige Vesuvinlösung bringen, dann bleiben die Bakterien blau, oft fast blauschwarz, während die Kerne braun

---

[1]) Deutsche med. Wochenschrift 1885, S. 136.

gefärbt werden. Man kann auch die roth (oder blau) gefärbten Präparate einige Minuten in Hämatoxylin (oder Carmin) bringen, doch haben diese Doppelfärbungen bei Deckglaspräparaten viel geringeren Werth als bei Schnittpräparaten.

Nur in wenig Fällen haben dieselben ein grosses praktisches Interesse gewonnen, zum

Nachweis der Tuberkelbacillen im Sputum und zur Differentialdiagnose dieser Bakterien.

Man könnte diese Präparate nach dem Gram'schen Verfahren färben, aber es werden dann die Tuberkelbacillen und andere Bakterien blau gefärbt, im Gegensatze zu den braunen Kernen. Zur Differentialdiagnose ist dies aber nicht genügend und man wendet deshalb für diesen Zweck ausschliesslich das von Koch ermittelte Prinzip an, die Tuberkelbacillen in einer anderen Farbe zu färben, als die übrigen Bakterien und die Kerne. Koch gelang dies, indem er die Präparate 24 Stunden in der schwachen alkalischen Methylenblau-Lösung (S. 55) liess, und dieselbe dann kurze Zeit in concentrirte wässrige Vesuvin-Lösung brachte; es waren dann die Tuberkelbacillen (und die Leprabacillen) blau, alle anderen Bakterien und die Kerne braun gefärbt. Nachdem dieses wichtige Prinzip gefunden war, lehrte Ehrlich in dem Anilinwasser ein noch besseres Mittel zur Steigerung der Färbungsintensität kennen und ermittelte, dass in mit Anilinwasserfarbe gefärbten Präparaten die Tuberkelbacillen einem Entfärben mit Salpetersäure widerstanden, während alle übrigen Bakterien durch diese Mineralsäure entfärbt wurden. Man darf aber die Präparate nicht so lange in der Säure liegen lassen, bis vollständige Entfärbung eingetreten ist, weil dann auch viele oder alle Tuberkelbacillen entfärbt werden. Man lässt dieselben so lange in der Säure, bis der rothe (Fuchsin) oder blaue (Methylviolett) Ton in Gelbroth (resp. grünlich-blau) übergegangen ist. Bringt man in diesem Stadium die Präparate in Wasser, so tritt wieder rothe resp. blaue Färbung ein; durch Einwirkung der Säure waren die einfach sauren Verbindungen (roth resp. blau) in die dreifach sauren (gelbroth resp. blaugrün) übergeführt; bei Wasserzutritt zerfallen die dreifach sauren Verbindungen

wieder und es entsteht wieder der rothe resp. blaue Ton. Man spült deshalb die durch Säure entfärbten Präparate nicht in Wasser, sondern in 50 bis 60% igem Alkohol ab. Dann färbt man mit verdünnter wässriger Lösung von Methylenblau (resp. Vesuvin) nach. Nach dem Abspülen des Methylenblau resp. Vesuvin werden die Präparate in Wasser untersucht oder nach Entfernen des Wassers in Canadabalsam conservirt. Trotz dieser ganzen Procedur behalten die Tuberkelbacillen ihre rothe (resp. blaue) Farbe und sind so leicht unter den übrigen Bestandtheilen zu erkennen. Ausser diesem differential-diagnostischen Effect der Doppelfärbung hat das Nachfärben in einer andern Farbe den Vortheil der leichteren Einstellung des Präparates. Tafel II, Fig. 9.

Ueber die Entnahme des bacillenhaltigen Materials ist noch zu bemerken, dass käsige Massen mit sterilisirtem Skalpell dünn ausgestrichen werden. Tuberkelknötchen müssen mit dem Skalpell (event. erst zwischen zwei Skalpellen) zerquetscht und dann auf dem Deckglase ganz flach gedrückt werden. Aus dem Sputum werden die zähen, gelblichen Massen benutzt, aus denselben mit dem Skalpell Partikel entnommen und auf dem Deckglase flach ausgestrichen oder durch Auflegen eines zweiten Deckglases breit gedrückt, so dass man nach Auseinanderziehen beider Deckgläser mit Pincetten zwei Präparate hat.

Das ganze Verfahren ist nach Koch[1]), unter Adoption des von Ehrlich eingeführten Anilinwassers, kurz:

1. Deckglaspräparate getrocknet, nach dem Trocknen dreimal durch die Flamme gezogen;
2. Färben mit der Weigert-Koch'schen Lösung von Methylviolett (oder Fuchsin), 12 Stunden lang;
3. Behandeln in verdünnter Salpetersäure (1 zu 3 bis 4) einige Secunden;
4. Spülen in 60% igem Alkohol durch mehrmaliges Hin- und Herbewegen;
5. Nachfärben in verdünnter Vesuvinlösung (oder Methylenblau) einige Minuten;
6. Abspülen; Untersuchen in Wasser.

[1]) Mittheilungen Bd. II, S. 10.

Dieses Verfahren ist bis jetzt das beste und dient in allen zweifelhaften Fällen zur Controle. Fast ebenso gute Resultate erhält man, wenn man statt der Anilinwasserfarben nach Weigert-Koch Carbolsäure-Fuchsin nach Ziehl-Neelsen anwendet, mit Schwefelsäure entfärbt und mit Methylenblau nachfärbt.

Zur differential-diagnostischen Entfärbung und Nachfärbung sind bis jetzt versucht worden: 1. andere Anilinfarben (Vesuvin von Koch), 2. Säuren (Salpetersäure von Ehrlich, Salzsäure von Orth, Schwefelsäure von Neelsen, Eisessig von Petri), 3. saurer Alkohol (schwach salpetersaurer von Rindfleisch, salzsaurer von Orth) und 4. Salzlösungen (Gram, de Giacomi, Góttstein). B. Fränkel combinirte einige dieser Möglichkeiten, indem er saure alkoholische Lösungen von Methylenblau oder Vesuvin herstellte, a) für blau: 50 Alkohol, 30 Wasser, 20 Salpetersäure, so viel Methylenblau, als sich nach wiederholtem Schütteln löst, zu filtriren; b) für braun: 70 Alkohol, 30 Salpetersäure und so viel Vesuvin, als sich löst, zu filtriren. Unter Verwendung dieser Lösung empfiehlt sich für die ärztlichen Bedürfnisse folgendes Verfahren von Fränkel: Man erhitzt ca. 5 ccm Anilinwasser in einem Reagirglase zum Kochen, giesst dasselbe in ein Uhrglas oder Schälchen und fügt zu diesem heissen Anilinwasser so viele Tropfen einer concentrirten alkoholischen Lösung von Fuchsin oder Methylviolett, bis eine kräftige opalescirende Farbe entsteht. Auf dieser warmen Lösung lässt man das Deckglaspräparat schwimmen, und zwar, trotzdem die meisten Tuberkelbacillen schon in 2 bis 3 Minuten gefärbt sind, der Vorsicht halber 5 bis 10 Minuten. Aus dieser Farblösung kommen die roth resp. blau gefärbten Präparate in blaue resp. braune saure alkoholische Lösung. Das Präparat erscheint nach 1 bis 2 Minuten in der letzteren Farbe gefärbt, wird dann in Wasser oder essigsaurem ($^1/_2$ %) 50 %igen Alkohol abgespült und in Wasser untersucht.

Wer mit Orth die Salzsäure vorzieht, kann sich folgenden Verfahrens nach Kaatzer bedienen: Färben wie vorher, dann Entfärben mit Mischung von 100 ccm 90 %igem Alkohol, 20 ccm Wasser und 20 Tropfen concentrirter Salzsäure; Nachspülen mit 90 %igem Alkohol zum Entfernen der Säure; Nachfärben mit concentrirter wässriger Lösung von Methylenblau oder Vesuvin.

Im Sputum finden sich nach Celli und Guarnieri[1]) bisweilen feinste Fettnadeln, welche sich der Färbung gegenüber fast genau so verhalten wie Tuberkelbacillen, „Pseudobacillen", welche aber bei einiger Aufmerksamkeit wegen der verschiedenen Grösse nicht mit ihnen zu verwechseln sind und durch Aether und Chloroform aufgelöst werden.

Die bis jetzt mitgetheilten Modificationen der auf Koch's Prinzip begründeten Ehrlich'schen Methode sind so zahlreich, ohne aber prinzipiell etwas Neues gebracht zu haben, dass ich wegen derselben auf einige zusammenfassende Darstellungen verweisen muss[2]), und mich begnüge mit Angabe der grundlegenden Methode von Koch, der bis jetzt wissenschaftlich besten nach Ehrlich-Weigert-Koch, der Modification von Ziehl-Neelsen, und von zwei praktisch brauchbaren Modificationen.

Bei diesen Methoden verhalten sich die **Leprabacillen,** wie die Tuberkelbacillen, von denen sie morphologisch ausserdem nicht ganz leicht auseinander zu halten sind. Die Differential-Diagnose durch Färbung gründet sich darauf, dass sich die Leprabacillen etwas leichter färben, als die Tuberkelbacillen und in Bezug auf die Leichtigkeit der Aufnahme von Farbstoffen ungefähr zwischen diesen und den meisten übrigen Arten stehen. Nach Baumgarten[3]) lässt man das Deckglas-Trockenpräparat 6 bis 7 Minuten in verdünnter alkoholischer Fuchsinlösung (5 bis 6 Tropfen concentrirter alkoholischer Lösung in einem Uhrglase destillirten Wassers) schwimmen, entfärbt $^1/_4$ Minute in saurem Alkohol (1 Theil Salpetersäure zu 10 Theilen Alkohol), spült die Säure in destillirtem Wasser ab,

---

[1]) Intorno alla profilassi della tubercolosi. Arch. per le scienze mediche 1883. Vol. VII, S. 233. Sopra talune forme cristalline che potrebbero simulare il bacillo del tubercolo. Accad. dei Lincei Juni 1883.

[2]) Kaatzer: Die Technik der Sputum-Untersuchung auf Tuberkel-Bacillen 2. Aufl. 1885.
B. Fränkel: Ueber die Färbung des Koch'schen Bacillus. Berl. klin. Wochenschrift 1884, No. 13.
Baumgarten: Beiträge zur Darstellungsmethode der Tuberkel-Bacillen; Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie I, 1884, S. 51.

[3]) Ueber Untersuchungsmethoden zur Unterscheidung von Lepra- und Tuberkel-Bacillen. ibid. S. 367.

färbt in wässrigem Methylenblau nach, spült ab, untersucht in Wasser. Die Leprabacillen erscheinen dann als rothe Stäbchen auf blauem Grunde, während Tuberkelbacillen in dieser Zeit bei dieser Behandlung noch keine Farbe angenommen haben. Nach Lustgarten[1]) widerstehen umgekehrt die Leprabacillen, wenn sie mit Anilinwasser-Fuchsin oder Gentianaviolett gefärbt sind, einer Entfärbung mit 1 % unterchlorigsaurem Natron besser als die Tuberkelbacillen, so dass sie noch gefärbt bleiben, wenn die Tuberkelbacillen bereits entfärbt sind. Bei der Anwendung von unterchlorigsauren Salzen müssen die Präparate sehr gut mit Wasser ausgewaschen werden, um eine nachträgliche bleichende Wirkung des Chlor unmöglich zu machen. Da möglicherweise auch die oxydirende Kraft des Chlor bei der Entfärbung betheiligt ist, kann man statt des Wassers auch reducirende Mittel zum Auswaschen benutzen.

Zum Nachweise der bei **Syphilis** in Geschwülsten und Sekreten gefundenen **Bacillen** benützt Lustgarten die oxydirende Wirkung von Kaliumpermanganat mit nachfolgender Einwirkung der reducirenden Eigenschaften der schwefligen Säure. Die mit Anilinwasser-Gentianaviolett 24 Stunden gefärbten Deckglaspräparate werden mit Wasser (nicht mit Alkohol) abgespült, kommen dann 10 Secunden in eine $1^1/_2$ % Lösung von Kaliumpermanganat. Es bildet sich ein flockiger brauner Niederschlag von Manganhyperoxyd. Dann lässt man eine wässrige Lösung von reiner schwefliger Säure (aus metallischem Kupfer und Schwefelsäure gewonnen) einwirken. Das braune Manganhyperoxyd wird von der schwefligen Säure je nach der Concentration fast momentan oder in wenigen Secunden zu Manganoxydul reducirt; die hierbei gleichzeitig entstehende Schwefelsäure verbindet sich mit diesem Manganoxydul zu dem farblosen schwefelsauren Mangan. Es tritt Entfärbung ein. Ist dieselbe noch nicht genügend, so wird das Präparat mit Wasser abgespült, und dann die Einwirkung von übermangansaurem Kali und schwefliger Säure ein oder mehreremal wiederholt, aber nur 3 bis 4 Secunden lang, bis vollständige Entfärbung eingetreten ist. Eine Contrastfärbung ist nicht erreichbar und bei wenig Bacillen ist die Auffindung derselben trotz der blauen

[1]) Die Syphilisbacillen 1885, S. 6.

Farbe nicht immer leicht. Die Differential-Diagnose gegen die bei demselben Vorgange sich ebenso verhaltenden, morphologisch ähnlichen Tuberkel- und Leprabacillen gründet sich darauf, dass die Syphilisbacillen durch Mineralsäuren rasch entfärbt werden. De Giacomi[1]) hat die Entfärbung durch Oxydation für den Nachweis dieser Bakterien sehr vereinfacht. Die Deckglaspräparate werden in Fuchsinlösung wenige Minuten erwärmt, dann in Wasser, dem einige Tropfen Eisenchloridlösung zugesetzt sind, abgespült, in concentrirter Lösung von Eisenchlorid entfärbt und dann gründlich mit Wasser abgespült; die Syphilisbacillen bleiben roth, alle anderen entfärben sich. Aehnlich wie Eisenchlorid wirkt nach Gottstein 5 % Kal. bichrom. und 2 % argent. nitr.

Im Smegma präputii wurden von Alvarez und Tavel[2]) Bacillen beobachtet, welche sich der Färbung gegenüber ähnlich verhielten und ähnliche Formen zeigten, wie die Syphilisbacillen von Lustgarten. Wird auch durch derartige Mittheilungen der differentialdiagnostische Werth der inzwischen bereits verbesserten und vereinfachten Lustgarten'schen Färbemethode modificirt, so werden doch durch diese Angaben allein die anderen Argumente von Lustgarten nicht berührt, nach denen es einstweilen wahrscheinlich bleibt, dass die Syphilis durch eine stäbchenförmige Bakterienart bedingt ist, da Lustgarten diese Bakterien nicht nur in Sekreten, sondern auch im Gewebe selbst und sogar in congenitalen Gummiknoten in Zellen eingeschlossen nachwies und Dontrelepont sie auch im Blute Syphilitischer fand.

Das Verhalten der Tuberkelbacillen, sowohl bei der von Koch gefundenen Färbemethode und ihren verschiedenen Modificationen, als bei der Methode von Baumgarten, diese Bakterien ungefärbt zur Anschauung zu bringen, schien zuerst diese Bacillen qualitativ von allen anderen Bakterien zu trennen. Weitere Studien haben jedoch diese Differenzen nicht als qualitative, sondern wesentlich als quantitative erkennen lassen. Die Tuberkelbacillen färben sich am schwierigsten, aber am dauerhaftesten. Seit Licht-

---

1) Referat von Gottstein in: Fortschritte der Medicin 1885, No. 16.

2) Archives de Physiologie 3. sér. VI 1885, No. 7.

heim[1]) und besonders durch die eingehende Arbeit von Baumgarten l. c., steht es fest, dass die Tuberkelbacillen in Deckglas-Trockenpräparaten sowohl durch verdünnte alkoholische, als durch stärkere wässrige Lösungen von Methylviolett, Gentianaviolett und Fuchsin in etwa 1 Stunde gefärbt werden, bei gleichzeitigem Erwärmen in ungefähr 5 Minuten (bei Schnitten ist die Zeit ca. 12 Stunden, resp. etwa 10 Minuten bei gleichzeitigem Erwärmen). Diese Färbungen widerstehen dem Entfärben durch Säuren gleichfalls einige Zeit, während bei zu langer Einwirkung derselben auch die Tuberkelbacillen entfärbt werden. Auch die Syphilisbacillen lassen sich nach Dontrelepont und Schütz[2]) in wässrigen Lösungen von Gentianaviolett färben. Die Tuberkelbacillen bleiben nach Behandlung mit Kali carbonicum isolirt gefärbt, ähnlich wie andere Bakterien. Werden die gefärbten Deckglaspräparate zum Entfärben etwa 1 Minute, (die Schnitte 5 Minuten) in Alkohol gelegt, und darauf 5 Minuten (Schnitte 15 bis 20 Minuten) in concentrirte wässrige Lösung von Vesuvin oder Methylenblau gebracht, so erhält man Doppelfärbungen. Es ist demnach weder der Zusatz von Alkali, noch von Anilinwasser absolut nöthig zur Färbung, ebensowenig ist das Verhalten gegen Säuren ein qualitativ differentes gegenüber den andern Bakterien, und zur Herstellung von Doppelfärbungen die Anwendung der Säuren nicht durchaus erforderlich. Ein wirkliches Verständniss für die Farbentheorie, welches erst so nahe zu liegen schien, ist demnach durch dieses quantitativ so abweichende Verhalten der Tuberkelbacillen bis jetzt noch nicht gewonnen. Eine Möglichkeit des Verständnisses wird eröffnet durch folgende Thatsachen. Der Zusatz von Alkali sowohl, als des schwach alkalisch reagirenden Anilins erleichtert die Färbung, ähnlich wirken andere aromatische Körper und Ammoniak. Der Zusatz von Säuren zum Anilinwasser hebt dessen Wirkung nicht auf, so dass wahrscheinlich die begünstigende Wirkung der Carbolsäure auf den aromatischen Körper zurückzuführen ist, und sich in ähnlicher Weise, trotz der sauren Reaction vollzieht.

---

[1]) Zur diagnostischen Verwerthung der Tuberkelbacillen. Fortschritte der Medicin 1883, S. 1.

[2]) Deutsche med. Wochenschrift 1885, S. 320.

Weiter ermittelte Gibbes[1]), dass bei gleichzeitiger Einwirkung zweier Anilinfarben die verschiedene tinctoriale Kraft derart sich bemerkbar macht, dass die Bacillen sich anders färben, als die übrigen Elemente, während sie bei anderer Anwendung sich in jeder dieser Farben gut färben. Zu 2 gr Fuchsin und 1 gr Methylenblau fügt man langsam eine Lösung von 3 ccm Anilinöl in 15 ccm Spiritus, und gibt nach Lösung der Farben 15 ccm Wasser hinzu. Diese Lösung wird erwärmt und das Deckglaspräparat 5 Minuten aufgelegt, dann mit Spiritus abgewaschen, bis keine Farbe mehr heruntergeht; die Bacillen erscheinen dann roth auf blauem Grunde. Diese kurze Methode ist leider praktisch nicht sicher genug.

Nachdem ich an einigen Beispielen gezeigt habe, in welcher Weise die Färbung der Deckglaspräparate generell zu behandeln ist und wie man in concreten Fällen abweichen muss, um gute Resultate zu erzielen, erübrigt es noch kurz zur Ergänzung der Färbungs-Principien

die allgemeinen Gesichtspunkte für die Wahl der Färbemethode

darzulegen, welche als Anhalt für weitere Ermittelungen dienen können. Gottstein[2]) ermittelte ganz allgemein, dass Zellprotoplasma, Kerne und Bakterien, welche in irgend einer Weise mit basischen Anilinfarben gefärbt sind, durch Nachbehandlung mit Salzlösungen entfärbt werden. Als hierzu geeignete Salze haben sich erwiesen: Jodkalium (Gram; das Jod ist für diesen Theil des Vorganges gleichgültig); unterchlorigsaures Natron, Kaliumpermanganat (Lustgarten; die Nachbehandlung mit Alkohol leistet dasselbe wie die viel umständlichere mit schwefliger Säure); Eisenchlorid (de Giacomi); das reducirende Eisenalaun wirkt nach Gottstein ebenso wie das oxydirende Eisenchlorid; Chlornatrium ca. 0,6 %, Alaun, Magnesiasalz, schwefelsaures und kohlensaures Natron (Gottstein; bei alkalisch reagirenden Salzen muss Oel vermieden oder wegen Gefahr der Verseifung sehr lange in Wasser ausgewaschen werden); Kali bichrom. 5 %, Argent. nitr. 2 % (Gottstein);

---

[1]) Lancet 1883, S. 771.

[2]) Ueber Entfärbung gefärbter Zellkerne und Mikroorganismen durch Salzlösungen. Fortschritte der Medicin 1885, S. 627.

Palladiumchlorid (Fütterer)[1]) und Goldchlorid sind wegen der körnigen Niederschläge nicht so zuverlässig. Die Entfärbung mit diesen Salzlösungen hängt von der Concentration und der Zeit der Einwirkung ab und die violetten Anilinfarben widerstehen etwas besser als Fuchsin. Die Anilinfarben sind in diesen Salzlösungen unlöslich, der Zusatz derselben zu gefärbten Präparaten bewirkt demnach, dass die Farben aus den Geweben ausgefällt werden, so dass diese niedergeschlagenen Farbpartikel mit Wasser abgespült oder (bei Schnitten) durch Alkohol, in dem sich der Niederschlag löst, ausgezogen werden können. Ceteris paribus geht das Zellprotoplasma die lockerste Verbindung mit dem Farbstoff ein und wird deshalb am schnellsten entfärbt, dann folgen die Kerne; die meisten Bakterien sind ebenso oder nur wenig mehr widerstandsfähig als die Kerne; am festesten binden den Farbstoff Pyämiekokken, Syphilis- (Lepra-?) und vor Allem die Tuberkelbacillen. Will man z. B. Protoplasma, Kerne und Tuberkelbacillen entfärben, so kann man entweder die gleiche Concentration der Salzlösungen verschieden lange Zeit einwirken lassen oder man muss drei verschieden starke Concentrationen wählen, wenn man die drei differenten Elemente in annähernd gleicher Zeit entfärben will.

Unter Berücksichtigung aller bis jetzt betrachteten Thatsachen und theoretischen Erwägungen stehen uns praktisch folgende Wege zu Gebote, um eine gute Bakterienfärbung direct und durch maximale Entfärbung zu erzielen.

1. Man färbt mit wässrigen oder verdünnten alkoholischen Lösungen der basischen Anilinfarben. Dann lässt man Extractionsmittel dieser Farben wie Alkohol, Glycerin, Essigsäure einwirken. Die Bakterien und Kerne widerstehen wegen ihrer stärkeren Election zu diesen Farben den Extractionsmitteln und bleiben gefärbt. Dies ist die einfachste Differenzirung von Bakterien und Kernen und dem Protoplasma der sogenannten Mastzellen gegenüber anderen Elementen.
2. Statt in zwei Zeiten lässt sich derselbe Vorgang bisweilen einfacher erzielen, wenn man die basischen Anilinfarben in

1) Virchow's Archiv Bd. 101. 1885, S. 236.

Mischungen von Wasser mit Alkohol, Glycerin oder Essigsäure oder von Wasser mit den drei Extractionsmitteln einwirken lässt.

3. Man lässt gleichzeitig oder nacheinander 2 bis 3 Farben einwirken, welche zu verschiedenen Elementen verschieden starke Affinität haben und zwar
   a) indem man basische und saure Anilinfarben in verschiedener Verbindung mit den genannten Extractionsmitteln verwendet, z. B. indem man auf blau oder violett mit basischer Anilinfarbe gefärbte Präparate verdünnte alkoholische Lösungen von Eosin einwirken lässt; die Bakterien und Kerne heben sich dann gut gegen den diffus rosa gefärbten Untergrund ab;
   b) indem man basische Anilinfarben und andere kernfärbenden Farben verbindet; z. B. Fuchsin und Hämatoxylin oder Methylenblau und Carmin. Die Election der Bakterien zu den basischen Anilinfarben ist grösser als zu den andern Kernfärbemitteln und umgekehrt verhält sich die Election der Kerne; man erhält auf diese Weise Bakterien und Kerne in verschiedenen Farben gefärbt;
   c) verbindet man a und b, so kann man sich leicht dreifache Färbungen verschaffen, indem sich die different gefärbten Bakterien und Kerne gegen den in der dritten Farbe gefärbten Untergrund abheben.

4. Der Effect der secundären Färbung durch Alkohol, Glycerin oder Essigsäure lässt sich steigern, wenn man die primäre Färbung verstärkt. Dies geschieht
   a) wenn man die wässrigen oder verdünnten alkoholischen Lösungen der basischen Anilinfarben warm anwendet;
   b) wenn man statt Wasser Körper der aromatischen Reihe, wie Anilinöl, Toluidin, Carbol in wässriger Lösung als Lösungsmittel dieser Farben benutzt;
   c) wenn man einige andere Lösungen statt des Wassers benutzt, z. B. Ammoniak, Borax;
   d) durch Zusatz von Kaliumhydrat zur wässrigen Lösung;
   e) wenn b bis d erwärmt angewendet werden.

5) Während in diesen Fällen Bakterien und Kerne gegen die übrigen Elemente unterschieden werden oder die Bakterien gegen die Kerne und andere Elemente sich besser abheben, gelingt es durch weitere Modificationen bestimmte Bakterien gegen die übrigen Bakterien, die Kerne und andere Elemente zu differenziren. Zu diesen Zwecken verwendet man am sichersten schon zur ersten Färbung nicht die gewöhnlichen wässrigen oder verdünnten alkoholischen Lösungen, sondern eine der verstärkten primären Färbungen (4) und kann dann noch secundär diese zuerst entfärbten Bakterien und Kerne in einer zweiten Farbe färben.

a) War die primäre Färbung durch alkalische Lösungen erzielt (4 d), so lässt man wässrige Lösungen einer anderen basischen Anilinfarbe folgen; z. B. Vesuvin auf Methylenblau, dann färben sich die Bakterien und Kerne braun im Gegensatze zu der einen blau gefärbten Art.

b) War die primäre Färbung durch aromatische Körper verstärkt, so widerstehen einzelne Bakterien eine Zeit lang der Wirkung von Mineralsäuren, während die anderen Bakterien und die Kerne entfärbt werden. Nach Auswaschen der überschüssigen Mineralsäure kann man dann die entfärbten Bakterien und Kerne leicht in einer zweiten wässrigen Anilinfarbe nachfärben.

6. Man wendet nach der ersten, am sichersten durch aromatische Körper verstärkten Färbung sogenannte Bleichverfahren der Chemie und Technologie an. Hierzu dienen

a) Jodkalium,

b) unterchlorigsaures Natron. Bei diesen beiden Mitteln hatte man sich zuerst die Vorstellung gebildet, dass sie mit bestimmten Bakterienarten eine unlösliche festere chemische Verbindung eingehen, welche den späteren Eingriffen widersteht, während sich in den anderen Elementen umgekehrt lösliche Jod- und Chlorverbindungen bilden sollten, welche durch Auswaschen entfernt werden könnten. Richtiger ist wohl die oben mitgetheilte Erklärung von Gottstein. Schon bei Chlor könnte man an eine Unterstützung durch

7. Oxydation denken, noch mehr scheint dies zu gelten
   a) von Kaliumpermanganat und
   b) von Eisenchlorid. Da aber diese Oxydationsmittel maximal entfärben ohne Nachbehandlung mit reducirenden Mitteln, dürfte für diese Fälle die Erklärung von Gottstein wohl richtiger sein, dass es sich bei 6 (a u. b) und bei 7 (a u. b) nur um eine einfachere Wirkung der Salzlösungen handelt, da man
8. mit einer Reihe anderer Salze und darunter selbst reducirender, wie Eisenalaun, ferner mit Chlornatrium, Kaliumchromat, Silbernitrat, Alaun, Natriumcarbonat, Natriumsulfat, Palladiumchlorid, Goldchlorid die maximale Entfärbung bei richtiger Concentration und Zeit, welche für viele Einzelfälle noch zu ermitteln ist, gleichfalls erreicht. Nachdem durch die unter 7 bis 8 besprochenen Salze die Bakterien und Kerne bis auf eine einzige resistentere Bakterienart entfärbt sind, gelingt es nach sorgfältigem Auswaschen mit Wasser oder Lösen des überschüssigen Farbstoffes durch Alkohol die entfärbten Bakterien und Kerne secundär wieder in einer anderen basischen Anilinfarbe oder ev. einer anderen kernfärbenden Farbe zu färben.

Die Untersuchung des Blutes auf Bakterien

kann sehr grosse Schwierigkeiten bieten, weil schon im normalen Blute innerhalb der Gefässe und beim normalen Zerfall des gesunden Blutes körnige Elemente vorhanden sind, resp. sich bilden, die unter pathologischen Verhältnissen, bei anämischen Zuständen, bei Fieber vermehrt auftreten, und welche leicht mit Kokken verwechselt werden können, schon sehr oft verwechselt sind und noch fast täglich damit verwechselt werden; z. B. die berühmten Syphiliskörperchen und die angeblichen Organismen des Schlangengiftes; hierher gehört auch Manches, was als Genese von Bakterien aus Stickstoffsplittern, aus Mikrozymen oder durch „Anamorphose des Protoplasma“ angesprochen worden ist. Ein genaues Studium dieser Blut-Granulationen ist deshalb bei der Bakterienforschung ein unumgängliches Desiderat. Diese Granulationen bilden aber ferner einen Bestandtheil der zelligen Elemente des Blutes, welche wieder dadurch für die Aetiologie von

Interesse sind; dass es Parasiten gibt, welche den amöboiden Zellen ähnlich sind, z. B. die von Lewis im Blute von Ratten, von Koch im Blute von Hamstern, von Lankaster und Danilewski im Blute von Fröschen gefundenen pathogenetischen Geisselmonaden. Auch bei der Malaria sind nach den Ermittelungen von Laveran, Marchiafava und Celli vielleicht derartige Organismen betheiligt.

Die direct oder durch ihre Granulationen zu Verwechslung Veranlassung gebenden Elemente des Blutes, mit Ausnahme der rothen Blutkörperchen und ihrer Zerfallsproducte, theilt man nach Ehrlich[1]) ein:

I. Lymphogene Elemente.
  a) kleine Lymphocyten;
  b) grosse Lymphocyten.

II. Myelogene Elemente.
  Eosinophile Zellen.

III. Unbestimmt (Milz und (oder) Knochenmark).
  a) grosse Mononucleäre Zellen;
  b) Uebergangsformen;
  c) Polynucleäre.

Die kleinen lymphogenen Elemente sind etwas kleiner, als die rothen Blutkörperchen, besitzen einen sehr grossen Kern, so dass von Protoplasma nur sehr wenig oder nichts zu sehen ist. Die grossen lymphogenen Elemente sind eine weitere Entwicklung der ersteren und von ihnen nur dadurch unterschieden, dass sie um den grossen Kern einen deutlichen Protoplasmasaum besitzen. Die myelogenen Elemente sind grosse, rundliche Zellen mit einem grossen länglichen Kerne. Die grossen mononucleären Zellen sind ungefähr dreimal so gross, wie die rothen Blutkörperchen, und besitzen einen grossen runden oder ovoiden Kern und grossen Protoplasmahof. Die mononucleären Uebergangsformen sind von diesen Zellen nur dadurch unterschieden, dass der Kern nicht mehr rund oder ovoid ist, sondern

[1]) cfr. die S. 51 citirten Arbeiten von Ehrlich, Westphal, Schwarze; ferner Spilling: Ueber Blutuntersuchungen bei Leukämie. Dissert. Berlin 1880, und Einhorn: Ueber das Verhalten der Lymphocyten zu den weissen Blutkörperchen. Dissert. Berlin 1884.

eine Einbuchtung erlitten hat. Die polynucleären Elemente sind etwas kleiner, aber immer noch grösser wie die rothen Blutkörperchen und ihr Kern zeigt eine weitere Differenzirung, eine polymorphe Gestalt; sie sind die eigentlichen weissen Blutkörperchen.

Die körnigen Elemente oder Granulationen, welche in diesen Zellen vorhanden sind und beim Zerfalle derselben frei werden können, theilt man in Bezug auf ihr Verhalten zu den Anilinfarben ein:

Die α-Granulationen oder eosinophile Körnung ist grobkuglig, stark glänzend und in allen sauren Anilinfarben tingibel. Sie findet sich in den myelogenen Elementen, ist im normalen Blute selten, bei leukämischen Prozessen stark vermehrt.

Die β-Granulationen oder amphophile Körnung findet sich besonders im Knochenmark, im Blute vielfach in Leukocythen bei Kaninchen und Meerschweinchen und ist in sauren und basischen Anilinfarben tingibel.

Die γ-Granulationen oder basophile Mastzellenkörnung ist, wie die Bakterien, durch basische Anilinfarben tingibel. Die Körner sind grob, wenig lichtbrechend, fehlen im menschlichen Blute normal fast ganz, treten bei leukämischen Prozessen vermehrt auf; im Blute niederer Thiere, besonders der weissen Ratten, sind sie normal vorhanden.

Die δ-Granulationen oder basophile Körnung ist fein, in basischen Anilinfarben tingibel und findet sich als Bestandtheil der grossen mononucleären Elemente.

Die ε-Granulationen oder neutrophile Körnung ist sehr fein, und erfüllt die polynucleären Elemente des Menschenblutes ganz dicht, kommt in den Uebergangsformen spärlich vor, und sehr selten in den monucleären Elementen; sie sind in neutralen Farben tingibel.

Bei Ausserachtlassung der Färbung können diese Granulationen sämmtlich, und ebenso die Zerfallsproducte der rothen Blutkörperchen, mit Kokken verwechselt werden. Bei systematischer Anwendung der Anilinfarben kann man sofort ausschliessen die α-, β- und ε-Granulationen. Eine Verwechslung ist dann nur noch möglich mit den γ- und δ-Granulationen, weil diese sich, wie die Bakterien, in basischen Anilinfarben färben. Diese letzteren sind durch ihr feines Korn relativ leicht von Kokken zu unterscheiden, und sind bis jetzt, wie

es scheint, noch nicht mit Bakterien verwechselt worden. Die Mastzellenkörner dagegen kommen in ihren mittleren Grössen den bekannteren Formen der Kokken so nahe, dass nicht nur die einzelnen freien Granulationen im Blut als Kokken gedeutet worden sind, sondern sogar die sogenannten Mastzellen in den Geweben als Colonien von Kokken wiederholt beschrieben wurden. Rein morphologisch sind sie dadurch zu unterscheiden, dass sie das gleichmässige Aussehen der Kokken nicht alle haben, sondern dass sich die verschiedensten Uebergänge zwischen den verschieden grossen Körnern finden.

Will man das Blut auf Bakterien zur Orientirung prüfen, so streicht man ein Tröpfchen flach aus, trocknet die dünne Schicht an, fixirt, indem man dieselbe dreimal durch die Flamme zieht, und färbt wie gewöhnlich. In derartigen Präparaten färben sich die Bakterien genügend, die Granulationen aber noch nicht gut.

Die Entnahme eines höchstens stecknadelkopfgrossen Bluttropfens muss zu diesem Zwecke mit grösster Vorsicht geschehen. Man entnimmt entweder bei Gelegenheit einer Blutung mit einer geglühten und wieder abgekühlten Platinnadel ein Tröpfchen Blut oder durch Einstich in die Haut, am besten an der Fingerkuppe, mit einer durch vorangegangenes Glühen sterilisirten Nadel. Die Haut wird an dieser Stelle mit Seife und Bürste gereinigt, dann mit 1 p. M. Sublimat gewaschen, das Sublimat mit Alkohol entfernt und der Alkohol mit Aether aufgenommen, den man verdunsten lässt. Der erste hervorquellende Blutstropfen wird mit geglühter Platinnadel weggenommen und erst die folgenden Tropfen werden benutzt. Auf ein hervorquellendes Bluttröpfchen wird ein mit einer Pincette gefasstes Deckglas leicht aufgetupft, aber ohne jede Berührung mit der umgebenden Haut. Auf dieses mit der Pincette gehaltene und mit dem Blutstropfen versehene Deckglas wird mit einer Pincette ein zweites Deckglas gelegt, welches durch seinen Druck das Bluttröpfchen zu einer ganz flachen Schicht ausbreitet, in der die Elemente sich nicht wesentlich alterirt zeigen. Die beiden mit Pincetten gefassten Deckgläschen werden von einander abgezogen, so dass man gleich zwei Deckgläser mit den gewünschten dünnen Schichten Blut erhält. Die Deckgläschen werden, nachdem die Schicht lufttrocken

geworden ist, zum Theil wie oben angegeben, nur nach kurzem Erhitzen auf Baktërien geprüft, zum Theil aber eine Stunde einer Temperatur von 120° ausgesetzt und dann mit basischen Anilinfarben behandelt, um die basophilen Granulationen genauer zu studiren.

Andere Präparate behandelt man zur Darstellung der eosinophilen Elemente mit sauren Anilinfarben nach kurzem und nach einstündigem Erhitzen. Man stellt eine Mischung eines gelben, schwarzen und rothen Farbstoffs von höchster tinctorialer Kraft her, deren jeder für sich allein alle säurebildenden Elemente färbt, bei deren gleichzeitiger Einwirkung aber wieder die Election sich derart geltend machen, dass man drei verschiedene eosinophile Elemente gleichzeitig in verschiedener Farbe färbt. Ein Volumen eines mit Aurantia gesättigten Glycerin wird mit zwei Volumen Glycerin versetzt, dann Anilinschwarz (Indulinsulfosäure) und Eosin in Ueberschuss zugesetzt und durch langes Schütteln gesättigt. Diese gesättigte, glycerinige Lösung färbt alle hämoglobinhaltigen Parthien intensiv orange, die Kerne grauschwarz bis schwarz, die eosinophile Körnung roth bis rothschwarz.

Zur Darstellung der neutrophilen Körnung dienen neutrale Farben, welche durch Zusammentreffen von Farbbasen mit Farbsäuren entstehen, z. B. wenn Säurefuchsin (rosanilinsulfosaures Natron) und Orange (G) mit dem basischen Methylgrün gemischt werden. Man mengt nach Ehrlich 125 ccm einer gesättigten wässrigen Orangelösung mit 125 ccm einer in 20 % igem Alkohol gesättigten Lösung von Säurefuchsin, fügt 75 ccm absoluten Alkohol hinzu und dann allmählig unter Schütteln 125 ccm gesättigte wässrige Lösung von Methylgrün. Die Lösung bleibt einige Zeit stehen, es bildet sich dann sowohl ein Niederschlag, als ein Häutchen an der Oberfläche. Man führt, um die Lösung ganz klar zu erhalten, eine Pipette in die Mitte der Lösung, entnimmt hier beliebige niederschlagsfreie Mengen; Pipette sowohl als Gefässe müssen absolut trocken sein, weil sonst sofort wieder Trübungen auftreten. In dieser Mischung färbt sich das Hämoglobin gelb bis orange, die Kerne grünlich, die neutrophile Körnung violett, die eosinophile dunkelgrau mit einem Stich in's Blaue.

Zur Darstellung der Zellen des Blutes dient folgende Mischung:[1]) 100 ccm Wasser, 100 ccm Glycerin, 100 ccm absoluter Alkohol, Hämatoxylin 1 bis 2 gr, Alaun bis zur Sättigung, Eosin 1 gr, Eisessig 10 ccm; die rothen Blutkörperchen zeigen eine intensiv rothe Farbe, die Kerne der Lymphocyten und Polynucleären sind intensiv blau, die Kerne der Mononucleären bläulichgrau gefärbt. Das Protoplasma der grossen Lymphocyten und der Polynucleären ist röthlich, das der Mononucleären dunkelgrau.

Die Wichtigkeit dieser Untersuchungsmethoden für den Nachweis von Mikroorganismen im Blute ist von Koch[2]) schon längst dargelegt worden, hat aber die nöthige Beachtung noch nicht überall gefunden. Die hier gegebene Darstellung war deshalb durchaus erforderlich und um so nöthiger, als in Folge der schweren Zugänglichkeit der Original-Arbeiten selbst unsere guten Handbücher der histologischen Technik hierüber ungenügend berichten.

Die Färbung der Geisseln, Fig. 8 (7, 9, 14, 16), welche sich im hängenden Tropfen in der feuchten Kammer durch einen Strudel an einem oder beiden Polen der Bakterien bemerkbar machen, gelingt an Deckglas-Trockenpräparaten nach Koch[3]) am besten durch Zusatz von concentrirten wässrigen Lösungen von Extr. campech. Die Geisseln werden braun gefärbt, doch ist die Färbung in dieser Weise nicht haltbar. Man legt deshalb die gefärbten Präparate einige Zeit in 0,5 % ige Chromsäure oder in Müller'sche Lösung, es bildet sich dann eine unlösliche braunschwarze Verbindung des Extr. campech. mit der Chromsäure. Nach dem Abspülen können diese Präparate direct in Glycerin, oder nach vorausgegangenem Trocknen in Canadabalsam conservirt werden. Diese Färbung macht es wahrscheinlich, dass diese geisselartigen Gebilde morphologisch nicht genau dem entsprechen, was man bei anderen Mikroorganismen als Geisseln auffasst, bei denen dieselben Protoplasmafortsätze sind. Van Tieghem hält es deshalb für möglich, dass bei den Bakterien zwei Formen von geisselartigen Gebilden

---

1) Ehrlich: Deutsche med. Wochenschrift 1883, No. 46.

2) Mittheilungen, Bd. 1, 1881, S. 7.

3) Verfahren zur Untersuchung etc. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1877, Bd. II. 3 Heft, S. 419.

vorkommen, von denen die einen vielleicht nur Fortsätze der Membran sind, während die anderen ächte contractile Protoplasmafortsätze sind. Eine eingehende Prüfung ist sehr erwünscht.

Nachweis und Färbung der Sporen. Taf. II. Fig. 10.

Beobachtet und gezeichnet, und zum Theil schon richtig als Sporen erkannt, wurden endogene Sporen von Bakterien zuerst wohl von Perty[1]). Pateur[2]) machte dann 1865 und 1870 einen scharfen Unterschied zwischen der Biologie der Organismen und ihrer Keime und fasste die Bildung der in den Vibrionen beobachteten kernähnlichen, stärker lichtbrechenden Körperchen als eine Art Parthenogenesis auf. Die Bildung von sporenähnlichen Gebilden hat demnach Pasteur zweifellos unabhängig wieder gefunden, da die ältere Untersuchung von Perty in Vergessenheit gerathen war. Auch den physiologisch wichtigsten Punkt, dass diese Gebilde einen Dauerzustand darstellen, hat Pasteur experimentell sicher gestellt; das morphologisch Entscheidende für die Sporennatur, das Auskeimen dagegen war ihm noch entgangen. Der erste, welcher nicht nur die Bildung, sondern auch die Auskeimung der Sporen richtig erkannte, war Cohn[3]). Weitere Einzelheiten brachten Koch, Brefed, Buchner und besonders Prazmowski[4]), welcher verschiedene Arten der Sporenauskeimung, Fig. 8 (18 und 19) sicher stellte, wodurch dieser Fructificationsvorgang eine erhöhte Bedeutung gewinnt.

Die Beobachtung der endogenen Sporen erfolgte bis vor Kurzem ausschliesslich im ungefärbten Zustande, Fig. 8 (5b, 8, 9, 10, 12). Sie erscheinen besonders schön im hängenden Tropfen und bei Abblendung als starkglänzende rundliche, ovale oder bohnenförmige

---

[1]) Zur Kenntniss kleinster Lebensformen 1852, Taf. XV, Fig. 26 und folgende und S. 181 über Sporonema.

[2]) Études sur la maladie des vers à soie, 1870, I, S. 168, 228, 256.

[3]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen 1876, II. Bd., 2. Heft, S. 263.

[4]) Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterien-Arten 1880 und Ueber den genetischen Zusammenhang der Milzbrand- und Heubakterien. Biolog. Centralblatt 1881, No. 13.

Körperchen in den weniger glänzenden Bakterien oder frei neben denselben. Bald liegen sie mehr nach der Mitte zu, bald ganz am Ende; die Zellen, in denen sie sich bilden, sind bald unverändert, bald eigenthümlich aufgetrieben. Da contrahirtes Bakterienprotoplasma nach Prazmowski gleichfalls stärker lichtbrechend ist, so ist das Gesammtverhalten in Betracht zu ziehen, um ein stärker lichtbrechendes Körperchen als Spore zu erklären.

Hierher gehört einmal das obige, regelmässig unter bestimmten biologischen Umständen eintretende morphologische Verhalten, die Resistenz gegen chemische Eingriffe, gegen hohe Temperaturen und gegen das Austrocknen und die Beobachtung, dass sich bei der Anwendung wässriger oder verdünnter alkoholischer Lösungen die Sporen nicht färben und als ungefärbte glänzende Lücken in den gefärbten Bakterien erscheinen.

Uebrigens treten bisweilen glänzende Körperchen im Innern der Bakterien auf, welche sich nicht färben und doch sicher gar nichts mit den endogenen Sporen zu thun haben. Einzelne derselben färben sich nach Marchand[1]) mit Jod intensiv gelb, während das Bakterienprotoplasma nur schwach gelblich wird und die Sporen ganz ungefärbt bleiben. Auch vacuolenartige Lücken und Fetttröpfchen können event., weil sie keine Farbe aufnehmen, zur Verwechslung mit endogenen Sporen Veranlassung geben.

Eine zufällige Beobachtung lehrte aber, die Sporen auch gefärbt zur Anschauung zu bringen. Koch[2]) sah, dass sich bei Färbung der Tuberkelbacillen mit Anilinwasser-Methylviolett die Sporen einer grossen Bacillenart gleichfalls blau färbten, so dass sie grossen Kokken sehr ähnlich waren, während sich die Bacillen selbst bei der Nachbehandlung braun färbten. Die Sporen anderer Bacillen vermochte Gaffky nicht in dieser Weise zu färben. Dagegen gelang es Neisser, die Sporen roth, die Bacillen blau zu färben, wenn er Anilinwasser-Fuchsin warm anwandte und mit Methylenblau

---

1) Sitzungsbericht der Gesellschaft zur Beförderung der gesammten Naturwissenschaften zu Marburg 1885, S. 20.

2) Mittheilungen 1884, Bd. II, Tafel V, Fig. 23 und S. 34.

nachfärbte, und Bienstock[1]) machte von dieser Färbung ausgedehnten Gebrauch. Weiter ermittelte Buchner[2]) ein Verfahren zur isolirten Färbung der Sporen. Weil die Färbung der lebenden Bakterien nicht gelingt, wohl aber der durch Trocknen und Erhitzen getödteten, glaubte Buchner den Grund der Nichtfärbung der Sporen in der grösseren Resistenz der Sporenmembran suchen zu müssen. Er suchte deshalb die Sporenmembran von bac. subtilis zu tödten und dadurch für Farben zugänglich zu machen, und erreichte dies, indem er die Deckglas-Trockenpräparate $^1/_2$ bis 1 Stunde auf 210° im Trockenschrank erhitzte oder 1 Stunde bei 120° im Dampfkessel hielt, oder indem er das Präparat mit concentrirter englischer Schwefelsäure betupfte und nach 15 Secunden sorgfältig auswusch, oder endlich, indem er concentrirte Kalilauge längere Zeit einwirken liess. In den so behandelten Präparaten färbten sich, besonders durch Methylenblau, die Sporen allein, während die Bakterien selbst keine Farbe mehr annahmen.

Mir gelang gleichzeitig und unabhängig von Buchners Versuchen sowohl die isolirte als die Doppelfärbung der endogenen Sporen (cfr. erste Auflage dieses Werkes).

Untersucht man kurz vor der Sporenbildung im hängenden Tropfen, so findet man in vielen Bakterien schon glänzende Körperchen, welche aber nicht die Gleichmässigkeit der Sporen haben. Färbt man die getrockneten und durch dreimaliges Durchziehen durch die Flamme fixirten Präparate mit wässrigen oder verdünnten alkoholischen Farblösungen, so findet man in diesem Stadium die Bakterien nicht so gleichmässig gefärbt wie sonst, sondern einzelne Parthien stärker und mehr körnig gefärbt. Dieses contrahirte Protoplasma färbt sich besser, als das nicht verdichte Baterien-Protoplasma. Andeutungen hierüber hatte ich schon früher bei den Involutionsformen des bac. cyanogenus gesehen. Dann folgt ein Stadium, in dem die glänzenden Körperchen schon viel gleichmässiger sind, aber sich noch sehr gut färben, und dann folgt ein

---

1) Zeitschrift für klin. Med. 1884, S. 1.

2) Ueber das Verhalten der Spaltpilz-Sporen zu den Anilinfarben. Aerztliches Intelligenzblatt 1884, No. 33, S. 370.

Stadium, in welchem sich gleichmässige glänzende Körperchen in den ungefärbten Präparaten finden, welche aber keine Farbe mehr annehmen. Erst jetzt ist die Spore fertig durch Bildung einer schwer durchgängigen Membran, welche die Aufnahme des Farbstoffs bei der gewöhnlichen Art der Einwirkung verhindert.

Zieht man das lufttrockne Deckglaspräparat dreimal durch die Flamme, so färben sich in diesen Präparaten Bakterien und Kerne gleich gut, zieht man öfter, bis zu etwa 6 Mal durch die Flamme, so färben sich successive die Bakterien immer schlechter, die Kerne noch immer gut, aber auch das contrahirte, aber noch nicht zur ächten Spore gewordene Protoplasma der Bakterien färbt sich noch. Man kann dann neben den Kernen oft körnige Elemente sehen, über deren Zugehörigkeit zu den schlecht gefärbten Bakterien man leicht sich täuschen kann. Zieht man noch öfter, bis zu 10 Mal, durch die Flamme, so verlieren auch die Kerne und das contrahirte Protoplasma die Fähigkeit, Farben aufzunehmen, dagegen gewinnen diese Fähigkeit die Sporen.

Bei einzelnen Fäulnissbacillen genügt schon 7maliges Durchziehen, bei andern erst 10maliges (im Trockenschrank war das gleiche Stadium bei ca. 180° resp. 200° in etwa $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde erreicht). Die Sporen nehmen dann wässrige Lösungen von rothen, violetten, blauen, braunen und grünen basischen Anilinfarben an. Diese isolirten Färbungen sind zur Prüfung der Resistenz der Sporen, wie Buchner meinte, vielleicht mit zu benutzen. Da man hierbei aber über das Verhalten der Sporen zu den Bakterien nichts erfährt, ist es besser, Doppelfärbungen anzuwenden. Das Verfahren ist fast dasselbe, quantitativ gesteigerte, wie bei den Tuberkelbacillen. Man färbt entweder die dreimal durch die Flamme gezogenen Präparate mit der starken alkalischen Lösung, welche man 12 bis 24 Stunden einwirken lässt (weniger gut durch Erwärmen auf 1 Stunde abzukürzen), und färbt mit Vesuvin nach, oder besser man benutzt die Anilinwasser-Farblösungen derart, dass man die getrockneten und erhitzten Deckglaspräparate auf heissen Lösungen von Anilinwasser-Fuchsin (Methylviolett) schwimmen lässt. Nach etwa 10 bis 20 Minuten, nach den Arten etwas wechselnd, sind die endogenen Sporen und das Protoplasma der Bakterien gleichmässig

gut gefärbt. Die Nachbehandlung wechselt nach den Arten. Bei manchen sich leicht färbenden Sporen, z. B. von Bacillus Megatherium genügt es schon, wenn man nach Abspülen der überschüssigen Farbe zum Färben der Bacillen eine wässrige Lösung von Methylenblau (Vesuvin) einige Minuten einwirken lässt. Sicherer gelingt die Doppelfärbung in den meisten Fällen, wenn man nach Entfernung des überschüssigen Farbstoffes einige Sekunden bis Minuten absoluten Alkohol einwirken lässt und dann erst die zweite wässrige Farbe anwendet. Bisweilen muss man statt des Alkohols verdünnte Mineralsäuren anwenden, um ganz scharfe Bilder zu erhalten. Wenn ich auch im Princip keinen Unterschied gefunden habe, ob ich Fuchsin oder Methylviolett zur Färbung der Sporen und Methylenblau oder Vesuvin zur Nachfärbung der Bakterien benutzte und mit kleinen Modificationen sicher mit beiden Färbungen positive Resultate erhielt, so dürfte den Meisten doch die schon von Neisser verwendete Färbung mit Fuchsin und Nachfärbung mit Methylenblau ebenso wie bei den Tuberkelbacillen mehr zusagen. Tafel II, Fig. 10.

Man findet neben ganz gleichmässig dunkel roth oder blau gefärbten Sporen auch solche, deren Membran stärker gefärbt ist, was darauf hinweist, dass die Membran der endogenen Sporen wohl das bestimmende für diese maximale Entfärbung und die dadurch ermöglichte Doppelfärbung ist.

Einzelne endogene Sporen färben sich übrigens schon in gesättigten, wässrigen und verdünnten alkoholischen Lösungen bei gleichzeitigem Erwärmen. Die Differenzen unter den endogenen Sporen scheinen in Bezug auf die Färbbarkeit kaum geringer, als unter den Bakterien selbst.

Die Arthrosporen färben sich, so weit dies bis jetzt bekannt ist, wie contrahirtes Bakterienprotoplasma schon in wässrigen Lösungen gut, da ihnen die gegen Chemikalien resistente Membran der endogenen Sporen fehlt. Eine Differentialdiagnose gegen andere morphologisch ähnliche Gebilde durch eine besondere Färbung resp. Doppelfärbung ist mir bis jetzt nicht gelungen.

Schnitt-Präparate.

Frische Organstückchen kann man mit dem Gefriermikrotom schneiden. Die Schnitte werden in $^1/_2$ % iger Kochsalzlösung aufgenommen und zum Theil frisch untersucht, zum Theil gefärbt. Zum letzteren Zwecke wird der Schnitt nach Weigert[1]) in der Lösung auf einem Spatel mit Hülfe von Nadeln gut ausgebreitet, dann herausgenommen und die überschüssige Salzlösung mit Fliesspapier entfernt. Darauf bringt man den Schnitt, ihn langsam senkend, in absoluten Alkohol, in dem er mindestens so lange bleibt, bis alle beim Aufthauen entstehenden Luftblasen verschwunden sind. Dann kommt der Schnitt in Farblösungen, von denen für diesen Zweck Vesuvin sich am meisten bewährt hat, weil bei den anderen Farben der Schnitt länger im Alkohol bleiben muss. Nach Friedländer[2]) kann man den Schnitt auch aus der Kochsalzlösung in die braune Farblösung bringen, von dort auf kurze Zeit in Alkohol, dann in Glycerin oder in Nelkenöl und Balsam.

Für das Studium der Bakterien scheint mir die Anfertigung von frischen Schnitten zur Orientirung eine ganz überflüssige Arbeit. In derselben Zeit, in welcher man einen für diese Zwecke brauchbaren Schnitt macht, kann man ein ganzes Dutzend Deckglas-Trockenpräparate mit dem Gewebssafte anfertigen, welche über das Vorkommen und den Gehalt an Bakterien besser orientiren.

Zum genauen Studium des Vorkommens und der Vertheilung von Bakterien in den Geweben ist es erforderlich die Gewebe gut zu härten und aus den **gehärteten Geweben** mit dem Mikrotom Serien von feinen Schnitten anzulegen. Von den mir bekannten Mikrotomen ist das Thoma-Jung'sche in seiner jetzigen Gestalt am meisten zu empfehlen. Diese Schnitte werden theils ungefärbt, theils nach vorausgegangener Färbung untersucht. Da sowohl die Färbung selbst als die zur guten Färbung erforderliche maximale Entfärbung sehr abhängig ist von dem durch die Härtung herbeigeführten Zustande der Präparate, so ist man für die Bakterien-Präparate in

[1]) Virchow's Archiv für pathologische Anatomie, Bd. 84 1881, S. 290.
[2]) Mikroskopische Technik, 2. Aufl., S. 119.

erster Linie auf den absoluten Alkohol als Härtungsmittel angewiesen. Die Färbungsfähigkeit der mit anderen Mitteln, wie Chromsalzen, gehärteten Gewebe ist inconstant; möglicherweise sind aber diese Härtungsmittel für andere parasitäre Mikroorganismen günstiger als Alkohol (cfr. S. 80).

Die Färbbarkeit der Albuminate hängt sehr von ihrem Gehalte an Wasser ab. Da das durch Alkohol coagulirte Eiweiss eine gewisse Menge von Wasser zurückhält, welches ihm erst allmählich im Verlaufe einiger Tage durch den absoluten Alkohol ganz entzogen wird, so muss die Härtung in Alkohol so lange dauern, bis ganz constante Verhältnisse eingetreten sind. Zu diesem Zwecke lässt man kleine Stückchen der Organe von etwa Haselnussgrösse mindestens drei Tage in einer grossen Menge von oft gewechseltem absolutem Alkohol.

Zum Studium der Beziehungen der Bakterien zu den Zellen bei dem die Härtung oft schonender sein muss als die zum einfachen Nachweise der Bakterien ausreichende Alkoholhärtung, hat sich mir die von Brass empfohlene, am Schlusse dieses Abschnittes genauer mitzutheilende Härtung durch $^1/_2$ % Chromsäure mit und ohne Zusatz von Platinchlorid und Essigsäure gut bewährt. Man muss die Gewebe nur wenige Tage in der Chromsäure lassen, dann sehr verdünnten ca. 30 % Alkohol anwenden und langsam bis zu absolutem Alkohol gehen.

Zum Schneiden werden die gefärbten Schnitte nach Weigert sehr bequem mit einem Glycerinleim oder einer Gummilösung aut Korkstücke aufgeklebt. Die derart angeklebten Stücke werden dann einige Stunden in Alkohol gebracht, so dass das Klebemittel gerinnt. Die Stücke haften dann fest am Kork, mit dem sie eingespannt werden. Auch das Einbetten in Paraffin oder Celloidin kann wünschenswerth werden bei sehr weichen, porösen oder kleinen Stücken, welche ohne ein derartig durchdringendes und sicher fixirendes Mittel keine guten Schnitte liefern. Bei Celloidineinbettungen ist nach dem Schneiden ein sehr sorgfältiges Auswaschen des Celloidin durch Alkohol-Aether nöthig, und selbst dann thut man gut sich nicht mit wässrigen Farblösungen aufzuhalten, sondern verwendet am besten Anilinwasserfarben. Zum Aufhellen leistet bei

Bakterienpräparaten das für diese Methode sonst empfohlene Origanumöl weniger als Cedernöl.

In den frischen oder gehärteten, **nicht gefärbten** Schnitten werden Bakterien nachgewiesen durch ihre Resistenz gegen Säuren und Alkalien[1]. Die Schnitte werden durch 50 %ige Essigsäure oder 1 bis 3 %ige Kali- oder Natronlauge sehr stark aufgehellt. Die Bakterien widerstehen dieser Behandlung nach v. Recklinghausen (S. 44). Alte Spirituspräparate werden in diesen Lösungen bis zur Blasenbildung erwärmt. Die Bakterien sind in solchen durchsichtig gemachten Präparaten zum Theil an der charakteristischen Form der einzelnen Bakterien zu erkennen, wie es von Baumgarten (S. 44) für Tuberkelbacillen, von Friedländer für Ileotyphus gefunden wurde. Bei den nicht durch scharfe Form der Einzelindividuen markirten Bakterien, besonders den Kokken, macht sich die Gruppenbildung, Doppelkokken, Tetraden, Packete, Ketten, Zoogloea, bemerkbar. Diese gleichmässigen Körner widerstehen dem Aether und Chloroform, welche Fetttröpfchen, mit denen eine Verwechslung möglich wäre, auflösen. In den Gefässen markiren sich die Kokkenanhäufungen nach v. Recklinghausen bisweilen dadurch, dass sie in Folge ihres Wachsthums die Gefässe varicös auftreiben. „Wenn wir in einem Schnitte, der vom frischen oder in Alkohol gehärteten Organ herrührt, Haufen oder Ketten kleiner Körnchen finden, die unter sich von annähernd gleicher Grösse sind, die so wohl der Behandlung mit Alkohol und Aether, als auch der energischen Einwirkung von concentrirter Essigsäure und der Alkalien auch beim Erwärmen resistiren, so sind wir nach Friedländer's Zusammenfassung[2] berechtigt, die Körner als Organismen anzusprechen."

Wichtiger ist der Nachweis der Bakterien in den durch Alkohol oder Chromsäure gehärteten Schnitten durch **Färbung.**[3] Die zur Erreichung constanter Verhältnisse erforder-

[1] cfr. Friedländer's Zusammenstellung in der Mikroskopischen Technik, 2. Aufl., S. 45.

[2] Mikroskopische Technik, 2. Aufl., S. 46.

[3] Litteratur, cfr. S. 49.

liche Dauer der Alkoholhärtung setzt die Färbbarkeit vieler Elemente herab, so dass die Färbung der gehärteten Schnitte in der Regel eine quantitative Steigerung der für Deckglas-Trockenpräparate ausgebildeten Färbemethodik erfordert. Die Schnitte werden erst überfärbt und dann durch secundäre „maximale“ Entfärbung der richtige Grad der Kern- und Bakterienfärbung herbeigeführt.

Die in Alkohol geschnittenen und in Alkohol aufgenommenen Schnitte werden in eine gesättigte wässrige oder verdünnte alkoholische Lösung der Farben gebracht, in der sie 5 Minuten bis eine halbe Stunde verweilen. Durch Erwärmen auf 40 bis 50° kann die Zeit etwas abgekürzt und vielfach auch die Intensität der Färbung gesteigert werden. Gentianaviolett wird nach Weigert sehr vortheilhaft auch in 1 %iger wässriger Lösung verwandt. Die Schnitte werden dabei diffus gefärbt.

Bei dieser Färbungsweise unterlässt man die früher vielfach übliche Entfärbung durch Essigsäure, weil manche Bakterien, wie Rotz- und Typhusbacillen, in kurzer Zeit den Farbstoff mehr oder weniger vollständig verlieren. Die Schnitte werden zur Entfernung eines Ueberschusses an Farbe aus der Farblösung in destillirtes Wasser gebracht. Im destillirten Wasser werden sie sorgfältig auf einem Spatel ausgebreitet und mit diesem Spatel langsam senkend in absoluten Alkohol gebracht zur Differenzirung der Bakterien und Kerne und zum Entwässern. Im Alkohol, der ganz säurefrei sein muss, verbleiben sie einige Minuten; dann werden sie in Terpentinöl oder Cedernöl übertragen zum Aufhellen und können in diesem Oel direct untersucht werden. Zum Conserviren saugt man das Oel mit Fliesspapier ab und legt dann in Canadabalsam ein. Da der Balsam in den Immersionsflüssigkeiten sich löst, muss man den Balsam genügend hart werden lassen, um nicht durch Verschieben des Deckgläschens eine Lösung des Balsams herbeizuführen. Will man frisch in Balsam eingelegte Präparate untersuchen oder versenden, so umrandet man das Deckglas zur Fixirung auf dem Objectträger am besten mit Schellack oder Maskenlack, der sich in der Immersionsflüssigkeit nicht löst. Auch für Schnitte sind möglichst verschiedene Farben in Anwendung zu ziehen.

Bei Anwendung dieser Färbemethode färben sich die Typhusbacillen schlecht; die Recurrensspirochäten nur in braunen Farben und auch dann noch nicht gut; die Leprabacillen schlecht in braunen, gut in rothen und blauen Farben.

Für diese Fälle lässt sich ausreichende Intensität der Färbung erzielen durch Anwendung der starken alkalischen Lösung von Methylenblau (S. 55), welche sich dadurch nach Löffler als die universellste aller bis jetzt für Schnitte versuchten Lösungen erweist.

Die Schnitte werden einige Minuten in diese Lösung gelegt, dann einige Sekunden in $^1/_2$ bis 1 % iger Essigsäure hin und herbewegt, um den überschüssigen Farbstoff aus den Geweben zu entfernen und Bakterien und Kerne zu differenziren, kommen dann zum Entwässern einige Minuten in Alkohol, werden in Cedernöl aufgehellt und in Canadabalsam conservirt. Bei dieser Behandlung färben sich viele sonst sehr schwer zu färbenden Bakterienarten fast gleich gut: Tuberkelbacillen eben so gut, wie bei den andern Methoden; ebenso Rotzbacillen, welche bei Anilinwasser-Farblösungen durch Essigsäure ganz entfärbt werden; Typhusbacillen, Recurrensspirochäten, welche sich auf andere Weise in Schnitten bis jetzt nur höchst mangelhaft haben färben lassen. Bei den meisten anderen Bakterien ist allerdings keine so auffallende Differenz zu Gunsten dieser Methode bemerkbar. Die vergleichende Färbung durch Anwendung wässriger und alkalischer Lösungen lässt bisweilen schon rein mikroskopisch Differenzen erkennen, welche zur Differentialdiagnose bei morphologisch ähnlichen Arten brauchbar sind.

Auch die schon erwähnten anderen Verstärkungen der primären Färbung durch Anilinöl, Carbol leisten ziemlich dasselbe wie die alkalische Lösung, wenn man sie nur dem Falle gemäss entsprechend modificirt und event. erwärmt anwendet; sie sind insofern vorzuziehen, als sie mit verschiedenen Farben gleich gute Resultate liefern, während die alkalische Lösung nur bei Methylenblau ganz befriedigt. Zur Differenzirung der Bakterien und Kerne lässt man die Essigsäure in der Regel am besten ganz fort und nimmt nur absoluten Alkohol.

Babes[1]) empfiehlt Safranin zur Färbung der Bakterien in Schnitten. Man lässt die Schnitte eine halbe Stunde in einer Mischung liegen, welche aus gleichen Theilen einer concentrirten wässrigen und einer concentrirten alkoholischen Lösung besteht. Dann werden die Schnitte kurz in Wasser und einige Minuten in Alkohol gebracht; darauf folgt Terpentinöl und Balsam. Die Bakterien sind bisweilen fast isolirt roth gefärbt. Die Methode bietet keine Vortheile, da sich die Kokken wohl gut, die übrigen Bakterien zum Theil gar nicht, zum Theil viel schlechter färben als bei den anderen Methoden.

Zur isolirten Färbung der Bakterien in Schnitten bringt man nach Koch die Schnitte aus der Farblösung in eine Lösung von kohlensaurem Kali, welche man sich derart herstellt, dass man eine gesättigte Lösung dieses Reagens mit gleichen Theilen destillirtem Wasser verdünnt. In dieser Lösung bleiben die Schnitte ungefähr 5 Minuten, werden dann mit dem Spatel in Alkohol übertragen, darauf in Cedernöl aufgehellt und in Balsam conservirt. Bei dieser Methode kann man verschiedene Farben anwenden. Waren die Schnitte in Anilinöl-Gentianaviolett gefärbt, so ist die Isolirung nach der Gram'schen Methode (S. 66) für die meisten Bakterien noch schöner. Die Schnitte kommen aus dem Alkohol, in dem sie nach dem Schneiden aufbewahrt wurden, 1 bis 3 Minuten (Tuberkelbacillen in Schnitten 12 bis 24 Stunden) in die Anilinwasser-Gentianaviolett-Lösung, dann werden sie ohne oder nach einer leichten Abspülung in Alkohol in die Jod-Jodkaliumlösung übertragen, in der sie 1 bis 3 Minuten verweilen. In der Jodkaliumlösung tritt ein Niederschlag ein und die Schnitte werden schwarz-purpurroth gefärbt. Dann kommen die Schnitte in Alkohol bis zur vollständigen Entfärbung, darauf in Oel, dann in Balsam. Nach Ribbert ist es noch besser, die Schnitte erst in Alkohol zu bringen, dem 10 bis 20 Theile Essigsäure zugesetzt sind, weil in reinem Alkohol die Kerne nicht genügend differenzirt werden, und dann erst in reinen Alkohol, dann folgen Oel, Balsam. Die Bakterien erscheinen dann dunkelblau, die Kerne und das Gewebe schwach gelblich. Die Kapselkokken der Pneumonie (wenigstens in der Regel) und ebenso die Typhus-

[1]) Archiv f. mikroskopische Anatomie, Bd. 22, S. 359.

bacillen werden eben so entfärbt wie die Kerne. Mit Rücksicht auf die Ermittelungen über den früher mitgetheilten vermuthlichen Grund dieses Verhaltens der Jod-Jodkaliumlösung wird man gut thun, durch Aenderung der Concentration und der Zeit der Einwirkung das Jodkalium auch mit anderen Farben, besonders dem Fuchsin, noch eingehender zu prüfen, da dem Jodkalium praktisch manche Vortheile gegenüber den anderen Salzen zuzukommen scheinen und die Gram-sche Färbung nur die für Gentianaviolett günstigste Concentration giebt.

Schon bei der Gram'schen Färbung erhält man eine Art **Doppelfärbung,** insofern als das Gewebe eine mehr oder weniger deutliche gelbe Farbe behält, von der sich die blauen Bakterien gut abheben. Aehnliche Beobachtungen machte Lustgarten (S. 72) bei den mit Gentianaviolett oder Fuchsin gefärbten Leprabacillen, wenn er zum Entfärben unterchlorigsaures Natron benutzte; das Gewebe erschien im ersten Falle schmutzig grün, im zweiten schön braun, so dass sich die blauen resp. rothen Bacillen gut abhoben. Diese Art der Doppelfärbung ist demnach wohl unabhängig von einer etwaigen metachromatischen Färbung, wie sie die violetten Farben zeigen.

Doppelfärbungen in Schnitten lassen sich derart herstellen, dass man die nach Gram isolirt gefärbten Schnitte nach dem Entfärben in Alkohol in eine schwache wässrige Lösung von Vesuvin bringt, dann wieder in Alkohol entwässert, in Oel aufhellt und in Balsam einschliesst. Die Kerne erscheinen dann braun, die Bakterien bleiben blau.

Eine sehr gute Doppelfärbung erhält man, wenn man die Schnitte etwa 10 Minuten in Anilinwasser-Gentianaviolett färbt, dann mit Wasser abspült, Bakterien und Kerne durch absoluten Alkohol gegen das übrige Gewebe differenzirt und darauf durch kurzes Einlegen in verdünnte alkoholische Eosinlösung das Gewebe rosa färbt. Nach nochmaliger Einwirkung von Alkohol zum Entwässern und nach Einlegen in Oel resp. zum Schlusse in Balsam heben sich die blauen Bakterien und Kerne sehr gut gegen den rosa Untergrund ab.

Carmin und Hämatoxylin färben, wie schon erwähnt, nicht alle Bakterien und auch diese nicht so gut wie die basischen Anilin-

färben, während sie Kernfärbemittel ersten Ranges sind. Man kann deshalb nach Koch's Methode isolirt blau gefärbte Bakterien-Schnittpräparate in eine kernfärbende Carminlösung (roth gefärbte in Hämatoxylin) etwa 10 Minuten bringen um die Kerne nachzufärben; dann kommt wieder Alkohol, Oel, Balsam.

Waren die Schnitte in concentrirten wässrigen oder verdünnten alkoholischen Lösungen diffus gefärbt, so bringt man sie zuerst in Alkohol zur Differenzirung der Bakterien und der Kerne, dann kommen sie zur Entfernung des Alkohols einen Moment in Wasser und dann in die Carmin- oder Hämatoxylinlösung, je nachdem die erste Färbung mit blauen oder rothen Anilinfarben vorgenommen war. Für diese Fälle empfiehlt sich nach Weigert besonders 1 %ige wässrige Lösung von Gentianaviolett und Nachfärben mit Pikrocarmin. Die Zeit der gewöhnlichen Kernfärbung von ca. 10 Minuten muss dabei etwas überschritten werden, weil das Carmin erst das Gentianaviolett aus den Kernen verdrängen muss. Die Zeit beträgt etwa $^1/_2$ bis 1 Stunde. Bei Kokken, bisweilen auch bei anderen Bakterien, wird bei noch längerer Einwirkung manchmal durch das Carmin auch die Anilinfärbung der Bakterien beeinträchtigt.

Diese differente Election der Bakterien und Kerne kann man vielleicht noch vortheilhafter derart verwenden, dass man die Schnitte erst etwa 10 bis 15 Minuten in die Carmin- oder Hämatoxylinlösung bringt; in dieser Zeit werden die Kerne gut und dauerhaft gefärbt, während die Bakterien nicht oder nur schlecht gefärbt sind. Nach Abspülen in Wasser kommen die Schnitte dann in die basische Anilinfarbe, in welcher sich die Bakterien färben, während der erste Farbstoff aus den Kernen nicht verdrängt wird. Dann folgt wieder Alkohol, Oel, Balsam. Wendet man Pikrocarmin an, statt des gewöhnlichen Carmin, so erhält man dreifache Färbungen (S. 57).

Für die Mehrzahl der Fälle erreicht man ausreichende und wirklich brauchbare Doppelfärbungen durch die Verwendung von Anilinöl-Gentianaviolett und Eosin, wenn man nur die Bakterien und Kerne gegen andere Elemente hervorheben, und durch die Gram'sche Färbung, wenn man Bakterien gegen alle anderen Elemente differenziren will.

Eine Verwechslung mit Kokken können in Schnitten leicht die sogenannten **Mastzellen** herbeiführen. Es sind dies kugelige oder spindelförmige Zellen mit grobkörnigem Protoplasma, dessen Granulationen sich den basischen Anilinfarben gegenüber wie die meisten Kokken verhalten. Die Kerne dieser Zellen färben sich nicht, so dass leicht der Anschein einer Kokkencolonie entsteht, mit der dieselben schon oft verwechselt wurden.

Diese Granulationen zeigen nicht die Resistenz gegen Säuren und Alkalien und sind nie von so ganz gleicher Grösse wie die Kokken; weiter sind sie durch den Ort ihres Vorkommens meist zu erkennen, da sie gewöhnlich der Gefässwand aufsitzen. Ein genaues Studium dieser Zellen ist höchst nothwendig und hierzu empfiehlt sich besonders das Ohr der weissen Mäuse. Eine definitive Entscheidung ist oft nur durch isolirte Bakterienfärbung zu erreichen, bei der die Mastzell-Granulationen ungefärbt bleiben.

Zur gleichzeitigen Färbung der meisten Kokken und der Mastzellen empfiehlt sich nach Ehrlich-Westphal folgende Lösung, welche auch die Unterscheidung anderer Bakterien von Kernen gestattet.

100 ccm Partsch-Grenacher'sches Carmin (Carmin pur. 2,0, aq. 200,0, Alaun 5,0 eine viertel Stunde gekocht, filtrirt, Zusatz von acid. carbol. 1,0),
100 ccm Glycerin,
100 ccm conc. alkohol. Lösung von Dahlia,
20 ccm Eisessig.

In dieser Lösung bleiben die Schnitte 24 Stunden, dann kommen sie einige Minuten in Alkohol, darauf in Oel und dann in Balsam. In dieser Lösung nehmen die Kerne eine rothe, die Mastzell-Granulationen und die Bakterien eine blauviolette Farbe an.

Zur Darstellung der Kapselkokken der **Pneumonie** in Schnitten wendet man nach Friedländer[1]) an:

conc. alkohol. Gentianaviolett-Lösung .	50
Aq. dest.	100
Ac. acet.	10.

[1]) Fortschritte der Medicin 1885, S. 92.

Die Schnitte bleiben 24 Stunden in der Lösung, kommen zur Differential-Entfärbung einige Minuten in 0,1 bis 1 % ige Essigsäure, dann folgen Alkohol, Oel, Balsam wie gewöhnlich. Eine etwaige Differentialdiagnose wird mikroskopisch möglich dadurch, dass bei der Gram'schen Methode diese Kapselkokken sich entfärben, während die übrigen Kokken (alle?) die Farbe behalten.

Nach Sahli gewährt die Lösung von Methylenblau in Borax (S. 57) für den Nachweis von Bakterien im **Centralnervensystem** den Vortheil, dass einmal die Bakterien sich so gut färben wie mit der alkalischen Methylenblaulösung und dass gleichzeitig eine sehr feine Differenzirung der verschiedenen Elemente des Nervensystems eintritt, indem die Gliakerne blau erscheinen, die Fasern deutlich und scharf blau hervortreten und die Ganglienzellen blass grünlich werden. Eine weitere Differenzirung wird möglich durch secundäre Einwirkung anderer Farben, besonders saurer Anilinfarben, Säurefuchsin, Tropäolin, vielleicht auch Eosin, ferner von Pikrinsäure. Die Schnitte kommen 10 Minuten bis mehrere Stunden, ohne Ueberfärbung befürchten zu müssen, in die Lösung, werden dann abgespült und darauf so lange in Wasser oder Alkohol differenzirt, bis die graue Substanz sich hell von der tiefblauen weissen abhebt; dann folgt Cedernöl und endlich Balsam.

Die **Typhusbacillen** färben sich bei der gewöhnlichen Art schlechter als die meisten übrigen Bakterien, selbst wenn man die Lösungen erwärmt. Nach Gaffky[1]) lässt man die Schnitte am besten 20 bis 24 Stunden in einer tiefblauen undurchsichtigen Lösung, welche durch Eingiessen einer gesättigten alkoholischen Lösung von Methylenblau in destillirtes Wasser jedesmal frisch bereitet wird. Dann werden die Schnitte in ganz säurefreiem destillirtem Wasser abgespült, in absolutem Alkohol entwässert, in Terpentinöl aufgehellt und in Balsam conservirt. Auch in der alkalischen Lösung von Methylenblau färben sie sich gut, während sie bei der Gram'schen Methode entfärbt werden.

Die **Rotzbacillen** werden nach Färben in Anilinwasser-Farb-

[1]) Mittheilungen 1884, Bd. II., S. 378.

lösungen durch essigsäurehaltiges Wasser entfärbt, dagegen durch die alkalische Lösung von Methylenblau gut gefärbt.

Die **Leprabacillen** färben sich in Schnitten wie die Tuberkelbacillen. Zur Differentialdiagnose empfiehlt deshalb Baumgarten (S. 71), die Schnitte 12 bis höchstens 15 Minuten in verdünnte alkoholische Lösung von Fuchsin zu legen, dann eine halbe Minute in saurem Alkohol (1 Theil Salpetersäure zu 10 Theilen Alkohol) zu entfärben, auswaschen in destillirtem Wasser, entwässern in Alkohol, dann Oel, Balsam. In dieser Zeit färben sich die Leprabacillen gut, die Tuberkelbacillen dagegen nicht. Umgekehrt verhalten sich nach Lustgarten (S. 72) die beiden Bakterienarten bei Entfärbung mit 1% unterchlorigsaurem Natron. Zum einfachen Nachweise der Leprabacillen ist die für Tuberkulose ausgearbeitete Methode mit Anilinwasser-Fuchsin, Säure und Nachfärben mit Methylenblau zuverlässiger als die in schwierigen Fällen zur Differentialdiagnose dienenden Methoden. Unna[1]) empfiehlt, die in dieser Weise gefärbten und nachgefärbten Schnitte nicht mit Alkohol zu entwässern, in Oel aufzuhellen und dann in Balsam einzubetten, sondern dieselben durch langsames Erhitzen des Objectträgers über der Flamme an den Objectträger anzutrocknen und ohne Einwirkung von Alkohol und Oel direct in Balsam einzuschliessen. Spezifische Vortheile besitzt dieses Antrocknen nicht.

Die bei **Syphilis** beobachteten und viellecht in causalen Beziehungen zu dieser Krankheit stehenden Bacillen kann man in Schnitten nachweisen, wenn man dieselben nach Lustgarten 12 bis 14 Stunden bei Zimmertemperatur in der Weigert-Koch-schen Gentianaviolettlösung und dann noch 2 Stunden bei 40° im Wärmekasten lässt. Der Schnitt kommt dann zum Differenziren einige Minuten in Alkohol und dann in das übermangansaure Kali und wird darauf so behandelt, wie die Deckglaspräparate (S. 72). Bequemer erreicht man das Ziel nach de Giacomi und Gottstein (S. 73), wenn man die Schnitte 24 Stunden in Anilinwasser-Fuchsin oder Gentianaviolett lässt, mit

[1]) Zur Histologie der leprösen Haut. Ergänzungsheft der Monatshefte für practische Dermatologie 1885.

Wasser abspült, dann in eine verdünnte Lösung von liquor ferri bringt, mit Alkohol abspült und in Oel aufhellt. Die fuchsingefärbten Schnitte sind dann gleichmässig hellviolett, die Kerne entfärbt und die Bakterien roth bis dunkel violett; bei den mit Gentianaviolett gefärbten Schnitten sind die Bakterien schwarzblau. Doutrelepont und Schütz (S. 74) bringen etwas umständlicher das gehärtete Stück 10 Minuten in Wasser, um es aufzuweichen, schneiden es mit dem Gefriermikrotom, bringen die Schnitte in $^1/_2$% Kochsalzlösung. Darauf werden die Schnitte in eine flache Schale mit absolutem Alkohol eingetragen, sorgfältig ausgebreitet und verbleiben so lange im Alkohol, bis sich keine Luftbläschen mehr zeigen. Dann kommen sie 24 bis 48 Stunden in 1% wässrige Lösung von Gentianaviolett. Zum Entfärben werden die Schnitte einige Secunden in verdünnter Salpetersäure (1:15) hin- und herbewegt und dann 5 bis 10 Minuten in 60% Alkohol gebracht. Blass veilchenblau kommen sie darauf einige Minuten in eine schwache durchsichtige wässrige Lösung von Safranin zur Nachfärbung. Die intensiv roth gefärbten Schnitten werden einige Secunden in 60% und ebenso nur einige Secunden in abs. Alkohol abgespült und entwässert, in Cedernöl aufgehellt und dann in Balsam eingelegt. Die Bacillen sind blau, die Kerne und das Gewebe hellroth, die Mastzellen blau mit rothem Kern.

Die **Tuberkelbacillen** kann man darstellen, indem man die Schnitte etwa 12 Stunden in die schwache alkalische, oder eine Stunde in die starke alkalische Lösung von Methylenblau (S. 55) einlegt, darauf einige Minuten in eine concentrirte wässrige Lösung von Vesuvin und dann in Alkohol bringt. Auch mit der Gramschen Methode kann man sie sichtbar machen. Zur Differentialdiagnose färbt man die Schnitte am sichersten nach den früher (S. 68) dargelegten Principien in Anilinwasser-Farblösungen nach Ehrlich oder Weigert-Koch.

Die Schnitte bleiben 12 bis 20 Stunden in Anilinwasser-Methylviolett (oder Fuchsin);
darauf einige Secunden in verd. Salpetersäure (1:3 bis 4);
Spülen in 60%igem Alkohol einige Minuten;

Nachfärben in verdünnter wässriger Lösung von Vesuvin (resp. Methylenblau);
Spülen in 60 % igem Alkohol;
Entwässern in absolutem Alkohol;
Aufhellen in Cedernöl und ev. Einlegen in Canadabalsam.

Fast dasselbe leistet für Schnitte die Carbolsäure mit Fuchsin (S. 57). A. Pfeiffer[1]) hat für feine Gewebe, wie Omentum kleiner Thiere, Pia mater, statt der Härtung in Alkohol eine Behandlung derartiger Gewebe nach Art der Deckglastrockenpräparate mit Erfolg angewendet. Unter Wasser wird ein Stückchen Omentum oder Pia auf einem Deckglase ausgebreitet, darauf wird das Deckgläschen vorsichtig aus der Flüssigkeit gehoben, so dass keine Faltung eintritt; dann wird das überschüssige Wasser mit Fliesspapier abgesaugt und auf zwei gegenüberstehenden Stellen des Deckgläschens das Gewebe etwas über den Rand gelegt. Das überstehende Stückchen schlägt sich über den Rand und fixirt so das Gewebe faltenlos. Das Ganze wird dann durch etwa einhalbstündiges Erwärmen bei 40 bis 45° ohne Faltung an das Deckglas angetrocknet, fixirt, indem es dreimal durch die Flamme gezogen wird und wie ein Deckglaspräparat gefärbt.

Die **Spirochäten** der Cholera asiatica, die sogenannten Kommabacillen, färben sich in Schnitten wie die meisten Bacillen, am Zuverlässigsten mit Anilinwasser-Farben. Die Recurrens-Spirochäten färben sich in wässrigen und glycerinigen Lösungen von Vesuvin, nicht von anderen Farben, aber schlecht. Dagegen färben sie sich gut in der starken alkalischen Lösung von Methylenblau.

Die **endermatisch** wuchernden Bakterien sind in Schnitten nach den allgemeinen Regeln zu behandeln. Für die in den Lymphbahnen bei Lichen ruber von Lassar[2]) gefundenen feinen Bacillen wird empfohlen, die Schnitte 12 Stunden in spirituöser Fuchsinlösung zu lassen, dann mit Alkohol so lange abzuspülen als Farbstoff abgeht und dann 4 bis 5 Minuten mit conc. wässrigem Vesuvin

---

1) Mittheilungen aus der amtlichen Lebensmittel-Untersuchungsanstalt zu Wiesbaden 1885, S. 199.

2) Deutsche med. Wochenschrift 1885, S. 551.

nachzufärben. Wenn auch in methodischer Hinsicht für die endermatischen Bakterien keine besonderen Technicismen gelten, so ist doch diesen Verhältnissen noch viel Aufmerksamkeit zu widmen. Manche derartige Heerde sind als secundäre Localisationen aufzufassen, z. B. bei Syphilis, zum Theil bei Tuberkulose, Lupus, Lepra, und bei andern ist vielleicht eine vorausgegangene Wunde die Ursache für das Eindringen an dem befallenen Orte, wie man es für Erysipel geradezu als Dogma aufgestellt hat, möglich ist es aber und von Garrè[1]) für die Entstehung von Carbunkeln und Furunkeln durch den sog. Staphylokokkus pyogenes aureus erwiesen, dass auch durch die unverletzte Haut, durch die Ausführungsgänge der Hautdrüsen Bakterien eindringen können.

Eine kurze Besprechung erfordern noch

die epiphytischen Bakterien

und die ähnlich zu beobachtenden übrigen epiphytischen Mikroorganismen. Ob sich unter den epiphytischen Bakterien parasitische befinden, ist bis jetzt nicht sicher entschieden. Die Hauptschwierigkeit dieser Untersuchungen liegt in der Anwesenheit von Fett.

Balzer[2]) wäscht die Hautschuppen mit Aether und Alkohol, und untersucht dieselben nach dem Färben mit alkoholischer Eosinlösung oder ohne vorausgegangene Färbung in 40 % iger Kalilauge. Nach von Sehlen[3]) werden die Haare nach der Entfettung auf kurze Zeit in Alkohol gebracht, und kommen dann in eine dünne Anilinöl-Fuchsinlösung. Darauf werden dieselben mit salzsaurem Alkohol ausgewaschen, der Rest der Säure mit destillirtem Wasser entfernt, eine Doppelfärbung mit concentrirter wässriger Lösung von Gentianaviolett herbeigeführt, mit Alkohol differenzirt wie sonst.

Nach Bizzozero[4]) tupft man Deckgläser auf die Oberhaut, zieht dieselben dreimal durch die Flamme, entfettet mit Chloroform

---

1) Fortschritte der Medicin 1885, S. 6.

2) Contribution à l'étude de l'erythème tricophytique. Arch. de Physiol. 3. sér. 1883. Bd. 1, S. 171.

3) Mikrokokken bei Area Celsi. Fortschritte der Medicin 1883, No. 23.

4) Ueber die Mikrophyten der normalen Oberhaut des Menschen. Virchow's Archiv 1884, Bd. 98, S. 441.

und färbt mit Fuchsin oder Gentianaviolett. Die Epidermisschuppen kommen zum Entfetten erst einige Stunden in Alkohol, darauf ein oder zwei Tage in Aether, dann wieder in Alkohol. Nach dem Entfetten stehen drei Wege offen:

1. Man bringt auf den Objectträger einen Tropfen, welcher aus gleicher Menge Wasser und Essigsäure besteht, oder einen Tropfen einer 10%igen Aetzkalilösung. In diesem Tropfen lässt man ein entfettetes Epidermisschüppchen einige Minuten aufquellen, legt das Deckglas auf. Zum Conserviren der Essigsäurepräparate lässt man vom Rande her Glycerin zutreten.

2. In einem mit Methylenblau leicht gefärbten Glycerin wird ein Epidermisschüppchen mit Nadeln ausgebreitet. Dabei färben sich Pilze blau, während die Epidermis ungefärbt bleibt.

3. Auf ein Deckgläschen bringt man einen Tropfen 50%iger Essigsäure und trägt die entfetteten Fpidermisschuppen ein. Nach einer viertel Stunde oder mehr, wenn die Schuppen gut aufgequollen sind, werden dieselben mit Nadeln ausgebreitet, dann dampft man den Essig bei gelinder Wärme ab; man kann zu diesem Zwecke das mit Pincette gefasste Deckglas hoch über einer Flamme hin und her bewegen. Nach dem Abdampfen wird das lufttrockne Präparat dreimal durch die Flammen gezogen und dann gefärbt, indem man einen Tropfen einer wässrigen Lösung von Methylviolett, Gentianaviolett, Vesuvin, Methylenblau oder einer verdünnten alkoholischen Lösung von Fuchsin 10 bis 30 Minuten einwirken lässt, dann wird sorgfältig ausgewaschen, getrocknet und in Balsam conservirt. Methylenblau wird von Bizzozero vorgezogen, weil es nur die Pilzelemente färbt; ich habe es am vortheilhaftesten gefunden, die starke alkalische Lösung von Methylenblau etwa 5 Minuten einwirken zu lassen. Mit dieser kleinen Modification scheint mir diese dritte Methode von Bizzozero zur Zeit am meisten für den Nachweis epiphytischer Mikroorganismen zu leisten.

Kurz erwähnen will ich, dass bei ächter Mykose die Mycelfäden der **Schimmelpilze** in den Schnitten am besten durch die Methode von Löffler (S. 94) nachgewiesen werden. Der Nachweis des **Strahlenpilzes** in Gewebsschnitten gelingt meist ohne besondere Präparation. Wegen häufiger Verkalkung der Actinomy-

[illegible] wird es oft nöthig die Entkalkung [illegible] resp. die Härtung in salzsäurehaltigem Alkohol und dann erst in absolutem Alkohol vorzunehmen. Die Färbung gelingt nach Weigert[1], indem man die Schnitte eine Stunde in Orseille-Lösung bringt. Reine Orseille, welche zur Befreiung von Ammoniak längere Zeit an der Luft gelegen hat, wird nach Weigert in einem Gemisch von 20 ccm absolutem Alkohol, 5 ccm Essigsäure, 40 ccm destillirtem Wasser in solcher Menge gelöst, dass die Flüssigkeit dunkelroth und nach dem Filtriren rubinroth erscheint. Dann spült man die Schnitte mit Alkohol ab, bringt sie in 1 %ige wässrige Lösung von Gentianaviolett und behandelt sie nun wie bei der Bakterienfärbung. In diesen Schnitten sind die Kerne blauviolett, das Bindegewebe schwach orange, die innern Parthien des Strahlenpilzes verwaschen blau, die Aussenparthien rubinroth gefärbt und oft durch eine farblose Zone von den centralen Parthien getrennt. Aehnlich ist die Färbung wenn man statt Gentianaviolett Methylenblau nimmt; das Centrum wird verwaschen grünlichblau, die Peripherie bläulichroth. Bei der Gram'schen Methode und der 24 stündigen Einwirkung der starken alkalischen Methylenblaulösung und Nachfärben der Schnitte mit Eosin bleibt das Centrum fast ungefärbt, der Rand wird nach Johne[2]) dunkel rosenroth.

Für freie **Amöben und membranlose Zellen** (S. 79) empfiehlt Brass[3]) eine Lösung aus einem Theil Chromsäure, einem Theil Platinchlorid, einem Theil concentrirter Essigsäure und 400 bis 1000 Theilen Wasser. Zur Härtung der Gewebe, bei denen die Zellen möglichst wenig verändert werden sollen (cfr. S. 91), empfiehlt Brass 1/8 bis 1/2 %ige Chromsäurelösung, der später noch einige Tropfen concentrirter Chromsäurelösung zugesetzt werden. Nach einiger Zeit kommt das Präparat erst in 30 %igen Alkohol und allmählich zur vollständigen Wasserentziehung in immer stärkeren, schliesslich in absoluten Alkohol. Auch die Mischung von Chrom-

---

1) Virchow's Archiv 1881, Bd. 84, S. 245.

2) Bericht über das Veterinärwesen im Königreich Sachsen für das Jahr 1884, S.-A. S. 29.

3) Die Methoden bei der Untersuchung thierischer Zellen. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie 1884, S. 39.

säure, Platinchlorid und Essigsäure ist zum schonenden Härten zu verwenden, besonders, wenn man auf 100 gr etwa 4 bis 6 Tropfen 1 % ige Ueberosmiumsäure zufügt. Die Färbung erfolgt durch Borax- oder Ammoniakcarmin, oder in Hämatoxylinlösung. Für Bakterienfärbungen haben mir diese Chromsäurelösungen zum Theil recht gute Resultate gegeben, wenn ich die Chromsäure nur wenige Tage einwirken liess, öfters wechselte und dann die Nachfärbung und Entwässerung durch Alkohol langsam steigend von 30 % bis zum absoluten Alkohol vornahm. Zum Studium der Beziehungen der Bakterien zu den Geweben wird man in Zukunft wohl neben den Alkoholhärtungen auch andere Härtungsverfahren mit in Betracht ziehen müssen.

Zum Studium der Morphologie der Bakterien ist öfters die Fixirung der beobachteten Bilder wünschenswerth. Bei der directen Beobachtung der Entwicklungsgeschichte kann man nur versuchen, die wechselnden Eindrücke möglichst getreu zu skizziren. Bei fixirten Präparaten wird man sich öfters mit Zeichnungen begnügen können, welche mit einem der gebräuchlichen Zeichenapparate möglichst exact aufgenommen werden. Auf die Dauer wird man ohne die photographische Wiedergabe der Bilder nicht auskommen, da sie allein volle Objectivität garantirt, wie es Koch eingehend dargelegt hat.[1]) Diesmal habe ich aus äusseren Gründen von einer Aufnahme dieser Technik noch Abstand genommen und verweise zur Orientirung auf die Handbücher der Photographie, von denen das Werk von Stein: Das Licht im Dienste wissenschaftlicher Forschung, 2. Aufl. 1884/85, im 2. Hefte 1884, unter dem Separattitel: Das Mikroskop und die mikroskopische Technik zum Zwecke photographischer Darstellung, besondere Rücksicht auf die Mikrophotographie nimmt.

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, II., 3. Heft 1877 und Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, I., 1881.

III. Kultur-Methoden; Reinkulturen.

Zuerst von Ehrenberg, später besonders von Cohn und Schröter war die Ansicht aufgestellt worden, dass es unter den Bakterien ächte Arten giebt. Auf Grund der Untersuchungen von Cagniard-Latour und Schwann hatte Turpin für die Fermentationen, Henle für die Infectionskrankheiten deducirt, dass specifische Umsetzungen und Krankheiten durch artächte Mikroorganismen verursacht werden, und Pasteur hatte durch Uebertragungsversuche experimentelle Beweise dafür gebracht, dass den specifischen Umsetzungen specifische, differente Mikroorganismen zu Grunde liegen. Diese Anschauungen sowohl, als die der Gegner, welche für Inconstanz von Form und Wirkung eintraten, können nur einwandsfrei geprüft werden, wenn die Bakterien rein und frei von allen Beimengungen zu Beobachtungen kommen. Deshalb ist das Bemühen vieler Forscher seit langem schon darauf gerichtet, die Kulturmethoden der Bakterien zu einwandsfreien Methoden von Reinkulturen zu gestalten.

1. Durchsichtige, flüssige Nährmedien.

Diese Methode ist die älteste und liegt allen Gährungsexperimenten der früheren Zeit zu Grunde. Für Bakterien wurde sie von Pasteur[1]) bei seiner ersten Arbeit zur vitalistischen Gährungstheorie schon angewendet. Sie besteht im Princip darin, dass man eine Spur der ursprünglichen, Gährungsorganismen enthaltenden Flüssigkeit, oder eine Spur der in derselben enthaltenden „Hefe“ in eine der ursprünglichen möglichst ähnlich zusammengesetzte Flüssig-

---

[1]) Mémoire sur la fermentation appelée lactique. Compt. rend. 1857. Bd. 45, S. 913.

keit überträgt, von dieser wieder eine Spur in eine dritte Lösung u. s. w. Die Pasteur'sche Schule hat an diesem Princip der Verwendung durchsichtiger flüssiger Nährmedien bis jetzt fast ausschliesslich festgehalten, vielfach noch in der ursprünglichen Form, oft mit den später zu besprechenden Modificationen der Verdünnungsmethode. Auch die vorwiegend morphologischen Untersuchungen von Cohn waren besonders an diese Methode geknüpft.

In Flüssigkeiten, welche durch Bakterien eine Zersetzung erleiden, sieht man bald diffuse Trübungen eintreten, bald einen Bodensatz, bald eine, meist „Kahmhaut" genannte Decke sich bilden. Bei Uebertragungen hat man jede derartige, dem Auge sich bietende Differenz zu beachten, und von jedem different erscheinenden Theile auf neue Lösungen zu übertragen. Eine solche Uebertragung in eine neue Lösung, kurz Impfung genannt, geschieht derart, dass man eine vorher ausgeglühte und wieder abgekühlte Platinnadel, gerade oder zur Oese gebogen, in die zu übertragende Bakterienhaut, oder die Trübung eintaucht, und dann die so entnommene „Spur" in die neue Lösung bringt; statt der Platinnadeln kann man auch zur Capillare ausgezogene Glasröhren verwenden, mit denen man einen Tropfen der Flüssigkeit überträgt.

Eine solche „Spur" oder ein „Bakterientropfen" enthält meist grosse Mengen von Bakterien. In Folge dessen entwickelt sich zunächst diejenige Art, welche in der neuen Lösung die besten Existenzbedingungen findet. Wenn das Nährmaterial für die eine Art erschöpft ist, kann sich dann später, vorausgesetzt, dass sich in der übertragenen Spur oder dem Tropfen mehrere Arten befanden, vielleicht die eine oder andere zuerst unterdrückte Form entwickeln. Kleine Differenzen lernte man in Bezug auf die Reihenfolge, in der sich dieser Kampf um's Dasein abspielte, kennen, je nachdem man die geimpften Lösungen bei niedriger oder höherer Temperatur hielt. Schliesslich erhält man bei irgend einer Uebertragung einmal eine mehr oder weniger reine Kultur von einem Organismus. Aber dies ist durchaus nicht immer, sondern eher selten, der Organismus, welchen man wirklich isoliren will; gewöhnlich ist die schliesslich resultirende „Reinkultnr" eine der gewöhnlichen saprophytischen Arten, welche unter den gewählten Bedingungen die anderen empfindlicheren

Arten verdrängt; daher rührt es, dass bei dieser Art der Kulturen sich so oft bakterium termo und bacillus subtilis einstellen, welche in der älteren Bakterien-Literatur eine viel grössere Rolle spielen, als jetzt.

Man lernte auf diese Weise eine **Abhängigkeit der Bakterienvegetation vom Nährboden** kennen. Dies führte erstens dazu, solche Flüssigkeiten zu wählen, welche möglichst vielen Arten annähernd gleich günstige Bedingungen bieten sollten. Solche **universell verwerthbaren Lösungen** bezeichnet man oft als Normallösungen im Gegensatz zu den principiell anders gewählten Lösungen, welche einem ganz speciellen Zwecke dienen sollten. Man variirte demgemäss zweitens die Lösungen derart, dass sie für einen ganz **concreten Fall** die relativ besten wurden, in der Hoffnung, dass in einer solchen Lösung im Gegensatze zu den Normallösungen eine bestimmte Art alle übrigen unterdrücken würde.

Von den künstlichen Normallösungen für die Bakterien ist die älteste die „Pasteur'sche Flüssigkeit“[1]), welche aus 1 Theil weinsaurem Ammoniak, 10 Theilen Candiszucker und der Asche von einem Theile Hefe auf 100 Theile Wasser besteht.

A. Mayer[2]) wandte statt der Hefenasche eine Lösung der in der Hefenasche enthaltenen Salze an. Cohn[3]) gewann dann, indem er diese Mayer'sche Normallösung der mineralischen Nährsalze benutzte und den Zucker wegliess, folgende „normale Bakteriennährflüssigkeit“:

0,5 gr phosphorsaures Kali, 0,5 gr krystallisirte schwefelsaure Magnesia, 0,05 gr dreibasisch phosphorsaurer Kalk auf 100 ccm destillirtes Wasser; hierin wurde 1,0 gr weinsaures Ammonik aufgelöst. Bei der Verwendung dieser Lösung zu Kulturen des bakterium termo zog Cohn nur den einen allgemeinen Schluss, dass die Bakterien wie die grünen Pflanzen und im Gegensatze zu den

---

1) Annales de Chimie et de Physique, Bd. 58, S. 323, deutsch von Griessmayer: Die Alkohol-Gährung 1878.

2) Unters. über die alkohol. Gährung 1869, Lehrbuch der Gährungs-Chemie, 3. Aufl., 1879.

3) Beiträge zur Biologie der Pflanzen I, 2. Heft, S. 195.

Thieren den Stickstoff in Form von Ammoniakverbindungen assimiliren können, während sie den Kohlenstoff nicht aus Kohlensäure zu entnehmen vermögen. Eine Verallgemeinerung für alle Bakterien vermied Cohn.

Nägeli[1]) ermittelte für die niederen Pilze und die Spaltpilze, dass der Stickstoff am besten assimilirt werden kann, wenn er als NH_2, weniger leicht, wenn er als NH, noch schlechter, wenn er als NO vorhanden ist, und gar nicht, wenn er mit anderen Elementen als H und O verbunden ist, so dass sich von den löslichen Albuminaten bis zu Ammoniak und Salpetersäure eine absteigende Skala construiren lässt. Für den Kohlenstoff stellte er folgende Skala auf:

1. die Zuckerarten;
2. Mannit; Glycerin; die Kohlenstoffgruppe im Leucin;
3. Weinsäure; Citronensäure; Bernsteinsäure; die Kohlenstoffgruppe im Asparagin;
4. Essigsäure; Aethylalkohol; Chinasäure;
5. Benzoesäure; Salicylsäure; die Kohlenstoffgruppe im Propylamin;
6. Die Kohlenstoffgruppe im Methylamin; Phenol.

Für die Assimilationsfähigkeit der vereinigten Stickstoff- und Kohlenstoffquellen stellte Nägeli folgende, von den besser zu den schlechter nährenden Substanzen fortschreitende Stufenreihe auf:

1. Eiweiss (Pepton) und Zucker;
2. Leucin und Zucker;
3. Weinsaures Ammoniak oder Salmiak und Zucker;
4. Eiweiss (Pepton);
5. Leucin;
6. Weinsaures Ammoniak; bernsteinsaures Ammoniak; Asparagin;
7. Essigsaures Ammoniak.

---

[1]) Ernährung der niederen Pilze durch Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen. Untersuchungen über niedere Pilze 1882, S. 1.

Ad 1, ist zu beachten, dass die Bakterien die Fähigkeit besitzen müssen, das Eiweiss in Pepton überzuführen und Milchzucker und Rohrzuckur zu hydratisiren, sodass man am sichersten Pepton und Traubenzucker nimmt.

Für die Mineralbestandtheile ermittelte Nägeli am besten:

Kaliumphosphat 0,1 gr, Magnesiumsulfat 0,02 gr, Calciumchlorid 0,01 gr auf 100 Theile Flüssigkeit. Darf die Reaction sauer sein, so nimmt Nägeli saures Kaliumphosphat ($KH_2 PO_4$), für neutrale und alkalische Lösungen Dikaliumphosphat ($K_2 HPO_4$). Je schlechter nährend die N- und C-Gruppen sind, desto weniger concentrirt darf die Salzlösung sein, während bei gut nährenden C- und N-Gruppen diese Normalconcentration überschritten werden darf. Daraus leitet Nägeli folgende „Normalflüssigkeiten für Spaltpilze her:

I. Wasser 100 ccm, weinsaures Ammoniak 1 gr, $K_2 HOP_4$ 0,1 gr, $MgSO_4$ 0,02 gr, $CaCl_2$ 0,01 gr.

II. Wasser 100 ccm, Eiweisspepton 1 gr, $K_2 HPO_4$ 0,2 gr, $MgSO_4$ 0,04 gr, $CaCl_2$ 0,02 gr.

III. Wasser 100 ccm, Rohrzucker 3 gr, weinsaures Ammoniak 1 gr, $K_2 HPO_4$ 0,2 gr, $MgSO_4$ 0,04 gr, $CaCl_2$ 0,02 gr.

Statt 1 gr weinsaures Ammoniak kann in III dienen, die gleiche Menge eines andern Ammoniaksalzes, oder 0,5 gr salpetersaures Ammoniak, oder 0,7 gr Asparagin, oder 0,4 gr Harnstoff.

Gegen die Zusammensetzung dieser mineralischen Lösungen wird der Chemiker einwenden dürfen, dass bei alkalischer Reaction ein Theil der Phosphorsäure ausfallen muss, so dass die Lösungen in Wirklichkeit nicht immer der angegebenen Zusammensetzung entsprechen, sondern oft nur einen rein empirischen Character tragen werden. Die bisherigen Erfahrungen mit diesen Normallösungen haben schon gelehrt, dass dieselben durchaus nicht so universell verwerthbar sind, wie man es früher gehofft hatte,

Statt der Nährsalze kann man sehr oft bequemer 0,1 % Fleischextract anwenden. Für die Gährungsversuche resultiren daraus, nach Fitz[1]), Lösungen aus 3 % Zucker oder Mannit, Glycerin etc. und

[1]) Ueber Spaltpilzgährungen VII. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1882, XV, S. 867.

0,1 % Fleischextract, denen eine geringe Menge von reinem Calciumcarbonat zugesetzt wird. Bei diesen Lösungen wird schon einem concreten Falle noch mehr Rechnung getragen als bei den Normallösungen.

Nach den bisherigen Erfahrungen über Kulturen in Flüssigkeiten wird man gut thun, die Normalnährflüssigkeiten mit besonderer Rücksicht auf den **concreten Fall** zu wählen. Dies muss geschehen, wenn man die Lösungen benutzen will um eine bestimmte Art, z. B. Fermentbakterien aus einem Gemische mit anderen Arten zu isoliren. In Ermangelung anderer Anhaltspunkte, wählt man, wie in den ersten Versuchen von Pasteur, zum Ausgang die Flüssigkeit, in welcher die Bakterien spontan beobachtet wurden. Für Mikroorganismen, welche auf festen Substraten beobachtet wurden, stellt man sich Decocte oder Infuse aus diesem Substrate her, von frischem Mist, von süssen, getrockneten Früchten, Heu, Wurzeln u. s. w.

„Eine Nahrlösung, welche diejenigen Substanzen gelöst enthält, die in einem festen Substrate, worauf ein Pilz in der Natur vorkommt, sich finden, wird nach Brefeld[1]) auch mit aller Wahrscheinlichkeit ein geeignetes Substrat für die Entwicklung des Pilzes abgeben." Die Lösungen werden für Pilze meist schwach sauer gehalten, für Bakterien in der Regel durch Ammoniak, Dinatriumphosphat oder Natrium-Carbonat neutralisirt oder schwach alkalisch gemacht, aufgekocht und filtrirt.

„Mit der Anwendung klarer, pilzfreier Nährlösungen, in welchen sich die Untersuchungen der Pilze durch directe Beobachtung mit derselben Leichtigkeit ausführen lassen, als ob sie in dem durchsichtigen Wasser lebten, wird die mycologische Untersuchung gleichsam in eine algologische umgewandelt, d. h. es sind mit den Nährlösungen die Bedingungen für die Entwicklung der Pilze künstlich hergestellt, unter welchen wir die Algen, die meistens das Wasser bewohnen, ohne weiteres natürlich antreffen."

---

[1]) Kulturmethoden zur Untersuchung der Pilze. Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, Heft IV, 1881, S. 5.

Mit diesen Worten von Brefeld (l. c. S. 7) ist der Hauptvortheil der Nährlösungen auch für Bakterienkulturen treffend gekennzeichnet.

Handelt es sich nicht darum eine bestimmte Art aus einem Gemische mit anderen Arten zu isoliren, sondern will man ermitteln wie viel verschiedene Arten in einem ganz unbekannten Gemische z. B. in Erde, Luft, Wasser sind, oder wie viel entwicklungsfähige Keime irgend ein Substrat enthält, so bedarf man trotz aller Erfahrungen, nach denen es keine Lösung giebt, welche allen Arten gleich gute Bedingungen gewährt, einer **möglichst universell verwerthbaren Lösung**. Diesem Ideal kommt eine richtig bereitete Fleischbrühe recht nahe. Miquel[1]) empfiehlt folgende Lösungen:

1. 50 gr Liebig'sches Fleischextract in 1 Liter Wasser gelöst, heiss mit Natronlauge neutralisirt, gekocht, filtrirt; dann bei 110° sterilisirt hat diese Lösung bei 18° ein sp. Gewicht von 1,024.
2. 1 kg mageres Ochsenfleisch wird 5 Stunden in 4 Liter Wasser gekocht, bleibt dann an einem kühlen Orte stehen. Am folgenden Tage mit Natronlauge neutralisirt, 10 Minuten gekocht, filtrirt und auf 4 Liter gebracht. In Kolben von ca. 0,6 Liter Inhalt vertheilt, welche zugeschmolzen und 2 Stunden bei 110° gehalten werden; das sp. Gewicht bei 20° ist ca. 1,003.
3. Der Bouillon 2 werden auf 1 Liter 10 gr Kochsalz zugefügt, wodurch das sp. Gewicht auf 1,009 steigt.

   Fol[2]) empfiehlt die Bouillon erst 1 Stunde bei 110° zu kochen, dann zur Entfernung des entstandenen Niederschlags nochmals zu filtriren und nun erst definitiv 4 bis 6 Stunden im Papin'schen Topfe zu sterilisiren. Ein Vortheil der Einwirkung der Temperatur von 110° besteht nach Fol darin, dass ein Theil des Eiweisses peptonisirt und dadurch löslich wird.

---

1) Les organismes vivants de l'atmosphère 1883, S. 151.

2) Archives des sciences physiques et naturelles 1884, S. 566.

4. Von universeller Brauchbarkeit hat sich mir folgende schnell herzustellende Lösung erwiesen, welche 3 % trockenes Pepton, 0,5 % Trauben- oder Rohrzucker und 0,5 % Fleischextract enthält. Statt Pepton und Fleischextract gesondert, kann man auch 2 bis 3 % Fleischpepton nehmen.
5. Am meisten scheint mir aber für diese Zwecke die Bouillon von Löffler[1]) zu leisten: $^1/_2$ kg gutes fein gehacktes Ochsenfleisch wird mit 1 Liter destillirtem Wasser versetzt, gut durchgerührt und bleibt 24 Stunden im Eisschrank stehen. Dann wird dasselbe durch Gaze, event. mit einer besonderen Fleischpresse, gepresst und die Flüssigkeit durch Zusatz von destillirtem Wasser wieder auf 1 Liter gebracht. Zu diesem trüben Fleischwasser fügt man 10 gr trockenes Pepton und 5 gr Kochsalz und kocht auf, neutralisirt die heisse Lösung mit Natriumcarbonat und kocht dann 1 bis 2 Stunden im Papin'schen Topfe oder Dampfsterilisirungs-Cylinder. Nach dem Erkalten filtrirt man durch doppelte Lage von Filtrirpapier und sterilisirt die durch destillirtes Wasser auf 1 Liter gebrachte Flüssigkeit am besten durch strömende Dämpfe. Sollte noch ein feiner Niederschlag entstehen, so kann man am folgenden oder zweiten Tage noch einmal filtriren und durch Dampf sterilisiren.

Die Bouillon lässt manche charakteristische Eigenthümlichkeiten erkennen, welche sich zur Differentialdiagnose verwerthen lassen. Von diesen Wachsthumsmerkmalen führe ich einige nach Miquel's[2]) Zusammenstellung an:

A. Die Bouillon bleibt klar, aber man erhält Niederschläge. Dieselben können gefärbt sein, weiss, gelb, grün, roth etc. Die Niederschläge sind schwach oder reichlich, pulvrig oder klebrig, klumpig oder in bestimmter Weise in Streifen, Ringen etc. angeordnet.

B. Die Bouillon trübt sich schwach oder stark. Die Trübung bleibt oder verschwindet; die Flüssigkeit klärt sich, es

---

[1]) Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. Bd. I, 1881. S. 169.

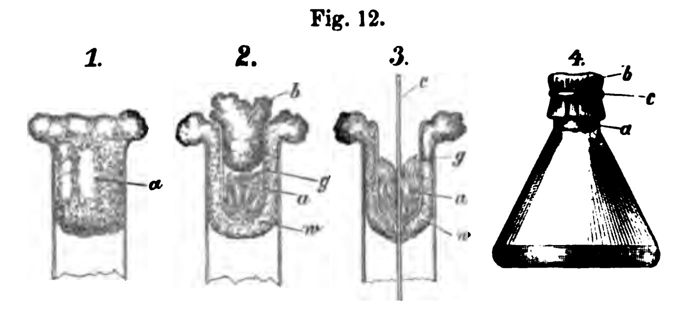
[2]) Annuaire de l'observatoire de Montsouris pour l'an 1885, S. 578.

bilden sich Wolken oder Niederschläge. Die schleierartigen Wolken sind dünn, glatt oder gefaltet, membranartig, irisirend, gleichmässig etc. Die Bouillon bewahrt ihre ursprüngliche Farbe oder ändert sie und nimmt verschiedene Farben an; sie bewahrt ihre Flüssigkeit oder wird klebrig, fadenziehend; sie ändert ihre Reaction und wird bald sauer, bald alkalisch, entwickelt bestimmten Geruch.

Auch die sterilisirte Milch, trotzdem sie wegen mangelnder Durchsichtigkeit weniger universell verwerthbar ist, gestattet manche Eigenthümlichkeit sehr schnell zu erkennen.[1]) A. sie ändert sich für das Auge nicht; B. sie ändert sich. Es tritt Gerinnung ein a) unter Säurebildung; die Gerinnung ist gelatinös oder fein- oder grobflockig. Es bleibt bei der Gerinnung oder auf die Gerinnung folgt eine Lösung des geronnenen Kaseïn; die Reaction bleibt dabei sauer oder wird neutral oder alkalisch; b) es tritt Gerinnung ohne Säurebildung ein, dieselbe erfolgt schnell oder langsam, unvollständig oder vollständig; auf diese labähnliche Gerinnung folgt keine, oder schwache oder intensive und schnelle Lösung des ausgeschiedenen Kaseïns. Die Reaction bleibt oder wird alkalisch.

Diese filtrirten, klaren, in der Regel neutral reagirenden Lösungen müsssen sicher sterilisirt werden. Zu diesem Zwecke nimmt man

Fig. 12.



mit reiner, vorher erhitzter Pincette den sterilisirten Wattepfropf, Fig. 12 (1, a), von dem sterilisirten Kolben oder Reagirglase (Ab-

[1]) cfr. meine Untersuchungen in den Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte II, 1884, S. 309 und Deutsche med. Wochenschrift 1884, No. 48 bis 50;

Duclaux: Annales de l'Institut National Agronomique 1882, S. 22.

schnitt I, S. 25) ab, und legt ihn so bei Seite, dass er nicht beschmutzt werden kann. Dann wird unter Zuhilfenahme eines sterilisirten Trichters, oder von sterilisirten Pipetten, die Flüssigkeit in Kolben gebracht, welche etwa zur Hälfte, oder in Reagirgläser, welche zu einem Drittel gefüllt werden. Darauf wird der Propf wieder aufgesetzt, so dass der Verschluss, Fig. 12 (1) resultirt. Oft wird es wünschenswerth, Fig. 12 (4) noch eine doppelte Lage dichtes Filtrirpapier b überzulegen, welches durch ein Gummiband c festgehalten wird und verhütet, dass Staub direct auf die Watte a fällt. Der Watteverschluss ist wohl bakteriendicht, aber nicht immer pilzdicht, was bei längerem Aufbewahren der sterilisirten Gefässe in feuchten Räumen zu beachten ist.

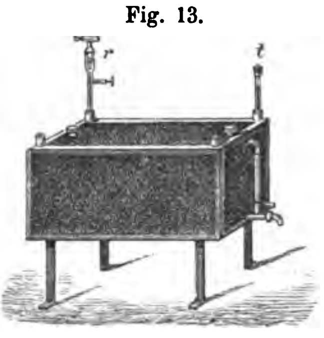
Das Sterilisiren geschieht nach einer der im ersten Abschnitte geschilderten Methoden, am besten in den meisten Fällen durch den Dampfsterilisirungs-Cylinder; kleinere Volumina Flüssigkeit, wie sie in den Reagirgläsern sich befinden, sind in $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden, grössere Kolben in 1 bis 2 Stunden, das Anwärmen nicht mitgerechnet, sterilisirt. Die gefüllten Reagirgläser werden am besten in einem Drahtkorbe (Fig. 7, d) in den Dampfcylinder eingesetzt.

Das Manipuliren mit den Flüssigkeiten geschieht zum Vermeiden der nicht oder schwer erkennbaren Luftinfection in einem möglichst keimfreien Raume, den man sich in einem Laboratorium dadurch herstellen kann, dass man in einem Glaskasten, ähnlich den zum Schutze der Waagen bestimmten, die Uebertragungen vornimmt. Die Wände dieses Glaskastens werden mit feuchten Tüchern abgerieben, und die Luft in demselben durch Schüsseln mit warmem Wasser feuchtgehalten.

Zum Zwecke der Uebertragung wird mit einer graden Platinnadel oder mit einer Platinöse, Fig. 15 (7), welche vorher in der Flamme geglüht waren und wieder abgekühlt sind, eine sogenannte „Spur“, oder mit einer Glascapillare, Fig. 15 (1) ein Tropfen der zu übertragenden Lösung oder Hefe genommen, und unter möglichst schnellem Oeffnen des Wattepfropfs in die sterilisirte Lösung eingebracht, und der Wattepfropf wieder schnell aufgesetzt. Hatten die Lösungen lange, ohne Schutz durch übergebundenes Filtrirpapier gestanden, so dass sich auf der Watte Bakterien- und Pilzkeime an-

gesammelt haben können, so ist es vortheilhaft vor dem Oeffnen die oberen Schichten der Watte in der Flamme zu verkohlen. Es sind immer eine grössere Anzahl Einzelversuche gleichzeitig anzustellen. Die weiteren Uebertragungen geschehen in derselben Weise. Die geimpften Gläser werden, je nach dem Falle bei Zimmertemperatur gehalten oder höheren Temperaturen ausgesetzt. Für die höheren Temperaturen dient ein Brütofen oder Vegetationskasten aus Metall, mit doppelter Wandung zur Aufnahme von Wasser (Fig. 13); zum Schutze gegen Wärmeverlust dient eine Umkleidung von Filz oder Asbest oder man giebt dem Kasten noch eine dritte Wandung und füllt diesen zweiten Zwischenraum mit einer Schicht von Kieselguhr. Die Dimensionen richten sich nach dem Bedarf; die Form, viereckig oder cylindrisch, ist ziemlich gleichgültig; statt des Deckels kann zum Einbringen der Gegenstände auch eine vordere Thür vorhanden sein. Bei den viereckigen ist eine innere Höhe und Breite von 25 ccm zu einer Länge von 50 bis 75 cm meist ausreichend. Zur Regulirung der Temperatur dienen Thermometer t, und Thermoregulatoren r. Diese letzteren kann man entbehren, wenn man einen Glasdruckregulator zwischen die Hauptleitung und den Brütofen einschaltet. Die Erwärmung geschieht durch Petroleumlampen oder Gas, welches man, je nach der Grösse, durch eine verschiedene Zahl von leuchtenden Flammen eintreten lässt, die mit Glasmantel umgeben werden und nicht zurückschlagen können.

Fig. 13.



2. Die fractionirten Kulturen.

Die Uebertragungen in Flüssigkeiten wurden von Klebs[1]) zuerst für pathogene Bakterien versucht und dabei von ihm die

[1]) Beiträge zur Kenntniss der Mikrokokken. Archiv für experimentelle Pathologie, I. Bd. 1873, S. 31.

Spur oder der Bakterientropfen anderer Autoren als fractio bezeichnet. Klebs verfuhr in der Art (l. c. S. 46), „dass er frisch ausgezogene und fein zugespitzte Capillarröhren auf den Boden der pilzhaltigen Flüssigkeit einsenkte und dort die Spitze abbrach; das herausgezogene Röhrchen wurde wieder zugeschmolzen, mit starkem Alkohol gereinigt und in einer pilzfreien Vegetationsflüssigkeit, die sich unter einer Oelschicht in einer Stöpselflasche befand, wiederum zerbrochen." Diese Prozedur wurde öfters wiederholt und „in dieser Weise ist es möglich (l. c. S. 47) etwaige Verunreinigungen, die in der Ursprungsflüssigkeit enthalten sein mögen, zu entfernen und denjenigen Körper rein zu erhalten, welcher in der ersteren in überwiegender Menge vorhanden war."

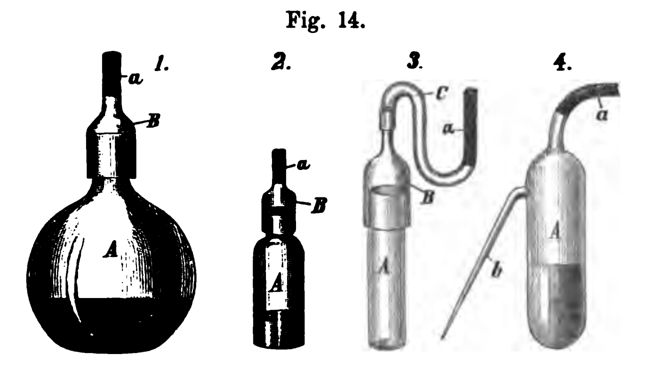
Trotz dieses subtileren Arbeitens und der schärferen Betonung des Ausganges von einem an Anzahl überwiegenden Organismus hat diese Methode keine wesentlichen Fortschritte gebracht. Auch bei dieser Complication der Pasteur'schen Methode stellte es sich leider evident heraus, dass in der Regel nicht der gewollte pathogene Organismus nach einer Reihe von Fractionen rein vorhanden war, sondern dass meist irgend eine, zu Anfang wegen der geringen Zahl vielleicht ganz übersehene oder durch Luftinfection oder Manipulationen eingebrachte Art von gewöhnlichen saprophytischen Bakterien rein gewonnen wurde, welche unter den gewählten Bedingungen besser fortkam, als die empfindlicheren pathogenen Bakterien, die von den ersteren meist sogar schnell überwuchert werden.

Man bekommt durch die bis jetzt geschilderten Methoden wohl schliesslich Reinkulturen, ohne es aber genügend in der Hand zu haben, als Resultat diejenigen Arten rein zu erhalten, welche man rein haben will. Diese Methoden sind deshalb jetzt nur dann zu verwenden, wenn man irgend einen Organismus in Rein- oder Massenkultur erlangen will, dessen Herkunft und Wirkung mehr gleichgültig ist.

Wenn auch der einfache Wattverschluss mit und ohne Filtrirpapier, Fig. 12 (1 und 4), bei genügender Uebung meist ausreicht und gerade die Einfachheit und Billigkeit bei fast immer genügender Sicherheit ein nicht hoch genug anzuschlagender Vorzug dieses Verschlusses ist, so bleibt es doch wünschenswerth, oft noch andere

Verschlüsse anzuwenden. Fol hat den Verschluss, Fig. 12 (2 und 3), angegeben. Eine dünne Lage Watte w wird durch ein glockenförmiges, an der Spitze mit einer Oeffnung versehenes Glasglöckchen g in die Mündung des Reagirglases oder Kolbens eingestülpt, so dass der Inhalt durch diese dünne Watteschicht und das eingestülpte Glas nach aussen abgeschlossen ist. Der Hohlraum des Glasglöckchens wird nun nicht mit Watte angefüllt, sondern erhält unten einen Propf von Asbest a, und darüber einen Wattepfropf b. Zum Impfen mit der Capillare c wird nun nicht der ganze Verschluss entfernt, sondern nur der Wattepfropf b, dann wird die vorher geglühte Canüle c durch die Asbestschicht a und die dünne Wattelage w durchgestossen, nach dem Einfüllen die Canüle wieder herausgezogen und der Wattepfropf b wieder auf den Asbest aufgesetzt. Pasteur hat den Verschluss, Fig. 14 (1), angegeben; auf den Hals des

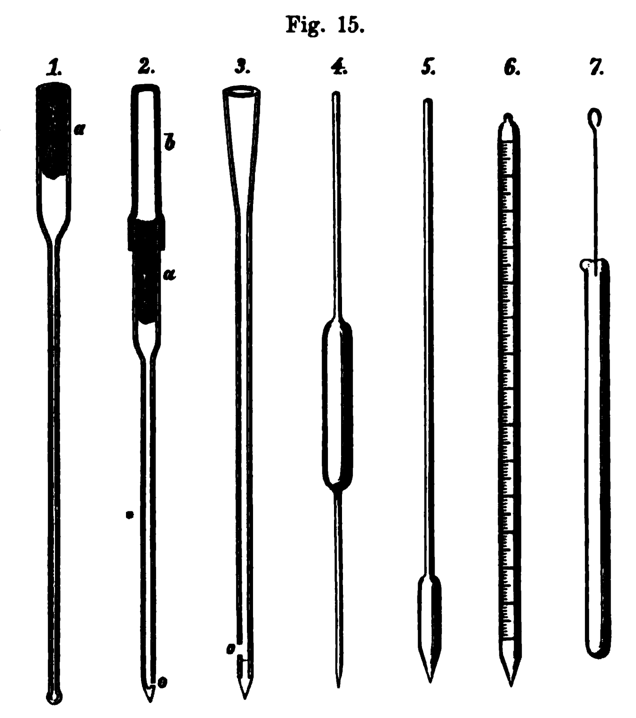
Fig. 14.



Kolbens A ist ein Helm B aufgeschliffen, der oben in eine engere Röhre a ausläuft. Nicht der Hals des Kolbens A, sondern der Hals des Helms B erhält bei a einen Verschluss von Watte, Asbest oder Glaswolle. Fig. 14 (2) zeigt dasselbe Prinzip in Form der kleinen von von Freudenreich eingeführten Fläschchen. Das Einfüllen in den Kolben geschieht unter Abnehmen des Helms B. Nach dem Sterilisiren kann man dann aber nach Belieben den Kolben öffnen, oder man lüftet nur den Wattepfropf a, so dass der Kolben selbst gar nicht berührt wird und sich am Halse des Kolbens kein Staub ablagern kann. Damit die aufgeschliffenen Theile gut gehen, kann man sie mit einer mit Sublimat versetzten Vaseline leicht fetten.

Eine kleine Veränderung, welche das Abnehmen eines Wattepfropfs ganz überflüssig macht, hat Salmon[1]) angegeben. Auf das Kölbchen, Fig. 14 (3), ist der Helm oder die Mütze B aufgeschliffen und auf diese der „Ventilator“ C. Dieser letztere besteht aus einem einfachen ∩-förmigen Röhrchen, oder kann auch doppelte U-Form haben und sein freies Ende a wird mit Asbest, Wolle oder Glaswolle geschlossen. Zum Füllen des Kolbens wird der Helm B abgenommen, zum Inficiren des Kolbens der Ventilator C. Zum **Uebertragen von Flüssigkeiten** dienen Glasstäbe mit eingeschmolzenem, event. zur Oese gebogenem Platindraht, Fig. 15 (7); zur Capillare ausgezogene Glasröhrchen, Fig. 15 (1); dieselben erhalten oben einen Propf von Asbest oder Watte und können unten zugeschmolzen

Fig. 15.



[1]) Smith: Remarks on fluid and gelatinous media for cultivating Microorganisms. Amer. Monthly Microsc. Journ. vol. V. 1884, S. 185. Citirt nach einem Referat von Baumgarten: Zeitschrift f. wissensch. Mikroskopie, II, 1885, S. 245.

werden, so dass man sie nach vorausgegangenem Glühen in der Flamme erst in der zu entnehmenden Flüssigkeit abbricht. Zur Füllung muss man entweder bei a saugen oder man befestigt über a einen Gummiballon oder ein geschlossenes Gummiröhrchen, Fig. 15 (2, b), wie sie an den Augentropfgläsern üblich sind. Fol giebt der Capillare nicht unten, sondern seitlich die Oeffnung, Fig. 15 (2, o); für bestimmte Zwecke verwendet er stählerne Trocarts mit unterer seitlicher Oeffnung, Fig. 15 (3). Bisweilen bedarf man zu Uebertragungen auch Pipetten, Fig. 15 (4, 5), von verschiedener Form oder Büretten (6), welche je nach dem Zwecke mit oder ohne einen der geschilderten Verschlüsse verwendet werden.

3. Undurchsichtige, feste Nährsubstrate. Taf. I, Fig. 2.

Ausser in Flüssigkeiten beobachtet man Bakterien spontan auf festen Substraten. Lässt man z. B. eine Scheibe einer gekochten Kartoffel an der Luft stehen, so sieht man von der Kartoffelschale aus sich verschiedene schleimige Massen (c, d) allmählich auf der Kartoffelfläche ausbreiten. Auf der Fläche selbst bilden sich kleine schleimige Pünktchen (b) von verschiedener Farbe, welche einige Zeit ganz distinct für sich bestehen und erst bei weiterem Wachsthum sich mit anderen berühren, dieselben überwuchern oder von ihnen überwuchert werden.

Diese Beobachtungen wurden von Schröter[1]) zuerst methodisch verwerthet zu Reinkulturen der Pigmentbakterien. Man überträgt mit einer Platinnadel eine Spur eines solchen Schleimtröpfchens, so lange es noch ganz isolirt ist, auf die Mitte einer frisch gekochten Kartoffelscheibe, welche aber zur Vermeidung der Luftinfection in einer feuchten Kammer gehalten wird.

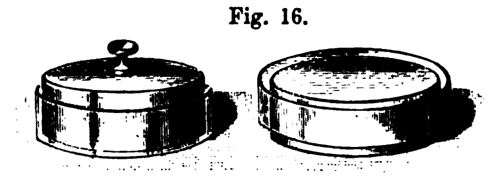
Diese Kartoffelkulturen wurden von Koch noch wesentlich verbessert. Die Kartoffeln werden durch Bürsten zuerst von dem groben Schmutze gründlich befreit; dann werden sie $^1/_2$ bis 1 Stunde in eine 1 bis 5 p. M. Lösung von Sublimat gelegt; hierauf mit Wasser abgespült. Die so gereinigten Kartoffeln, deren anhängende

[1]) Ueber einige durch Bakterien gebildete Pigmente. Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen, I. Bd., Heft 2, 1872 (2. Abdruck 1881), S. 109.

Keime durch das Sublimat schon zum grössten Theile vernichtet sind, werden dann bis zur sicheren Sterilisirung gekocht. Dies geschieht im Dampfcylinder; man legt die Kartoffeln in das beigegebene Gefäss, welches man dann einsetzt. Nach Erreichung der Siedetemperatur bleiben die Kartoffeln bei dieser Temperatur ungefähr eine Stunde.

Während des Abkühlens bereitet man sich feuchte Kammern. Grössere Glocken von der Form der Fig. 16 werden durch Spülen mit 1 p. M. Sublimat gereinigt. Auf den Boden der Glocke bringt man eine mehrfache Lage von Fliesspapier, welches mit ausgekochtem Wasser oder Sublimatlösung angefeuchtet wird. Sind die Kartoffeln abgekühlt, so werden sie mit der linken, durch 1 p. M. Sublimat sterilisirten Hand zwischen Daumen und Zeigefinger gefasst, mit einem sterilisirten Messer durchschnitten und mit der Schnittfläche nach oben in die feuchte Glocke eingelegt. Als Messer verwendet man gewöhnliche Küchenmesser, welche vorher durch Ausglühen in der Flamme sterilisirt werden und gegen Staub geschützt wieder abgekühlt sind; für jede Kartoffel benutzt man ein frisches Messer.

Fig. 16.



Dann entnimmt man mit einer vorher ausgeglühten und wieder abgekühlten Platinnadel eine Spur von einem noch ganz isolirten Schleimklümpchen, einer sogenannten „Colonie", und berührt nur eben die Mitte der Kartoffelscheibe oder macht quer über die ganze Fläche, dieselbe nur leicht ritzend, einige Impfstriche.

Im ersten Falle bildet sich auf der Mitte der Kartoffelscheibe eine allmählich nach dem Rande zu wachsende Colonie (b), im andern entwickeln sich in den Impfstrichen erst mehr oder weniger isolirte Colonien, welche sich später berühren und über den Impfstrich hinauswachsen (a). Für neue Uebertragungen verwendet man nur Colonien, welche man mit blosem Auge oder Loupe als rein erkennt und von denen man eine andere Spur durch ein Deckglaspräparat mikroskopisch controlirt hat. Ein Theil der Kulturen kann bei Zimmer-

temperatur, ein anderer Theil bei höherer Temperatur im Vegetations-Kasten gehalten werden.

Der grosse Vortheil dieser Methode gegenüber den früher geschilderten Methoden der durchsichtigen flüssigen Medien besteht darin, dass jeder absichtlich geimpfte oder durch Luftinfection auf die Kartoffelscheibe gelangte Keim isolirt am Orte seiner Berührung mit der Kartoffel zu einer Colonie auswächst, während in den Flüssigkeiten sich differente Keime vermischen.

In Flüssigkeiten resultirt wohl auch eine Reinkultur, aber man hat es nicht sicher in der Hand den Organismus vorher zu bestimmen, der in der Reinkultur auftreten soll. In den Kartoffelkulturen dagegen ist man in der Lage, den gewünschten Organismus zu übertragen und dadurch von anderen zu trennen und so nach einigen Uebertragungen rein zu kultiviren. Man muss nur die Uebertragungen so frühzeitig vornehmen, als die kleinen, aus einem Keime hervorgegangenen Colonien noch ganz isolirt und in Folge der Isolirung einheitlich und rein sind. Die Grenzen der Methode liegen darin, dass die Kartoffeln nicht allen Organismen günstige Existenzbedingungen bieten und darin, dass viele, sonst auf den Kartoffeln wachsende Organismen, nicht genügend augenfällig wachsen. Das letztere ist wichtig, weil man bei den festen undurchsichtigen Medien auf das blose Auge oder Loupenvergrösserung angewiesen ist.

Wichtiger sind die Uebertragungen auf Kartoffeln, wenn man sehen will, ob anderweitig gewonnene Reinkulturen, besonders von pathogenen Bakterien, die Fähigkeit haben auf pflanzlichen Substraten zu vegetiren. Man impft dann die sterilisirten Kartoffeln ebenso mit diesen Reinkulturen. Die Kartoffelscheiben können in derselben Weise in feuchten Glocken gehalten werden, die man verschiedenen Temperaturen aussetzt. Oder zur grösseren Sicherheit bringt man eine Kartoffelscheibe auf eine kleine Glasschale, welche man mit Hülfe eines rechtwinkelig gebogenen Messingstreifens auf den Boden eines cylindrischen Glasgefässes von ca. 18 cm Höhe und 6 cm Durchmesser niedersenkt. Der Glascylinder mit Glasschale und Messingstreifen war vorher mit einem Watteproprf verschlossen und im Trockenschrank sterilisirt worden.

Statt der Kartoffelscheiben, welche durch ihre gelblichweise Farbe den Vorzug vor andern Wurzeln, wie Mohrrüben etc., verdienen, kann man auch zerriebene Kartoffeln verwenden. Zu diesem Zwecke bringt man die zerriebenen gekochten Kartoffeln in Kölbchen (am besten sogenannte Erlenmeyer'sche Kölbchen), fügt so viel Wasser zu, dass ein dicker Brei entsteht, und sterilisirt diesen Kartoffelbrei im Dampfapparat. Unter schnellem Oeffnen des Pfropfens erfolgt die Impfung mit einer Platinnadel. Diesen Kartoffelbrei kann man durch Zusatz von Stärke, Zucker, Pepton, Fleischextract zu einem sehr guten Nährboden für viele Bakterien machen und dann sehr vortheilhaft benutzen um reine Massenkulturen bestimmter Bakterienarten zu gewinnen.

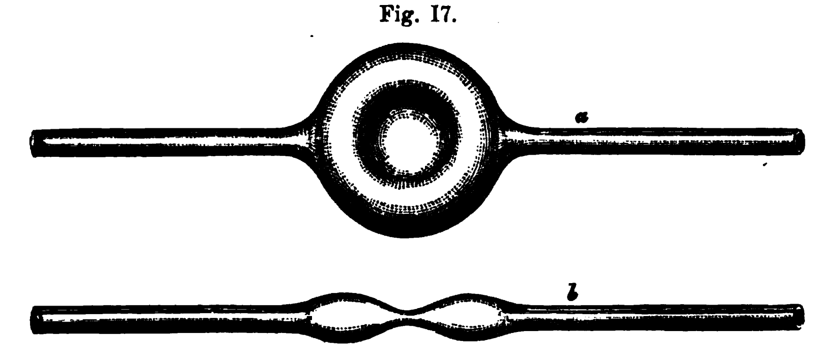
4. Die Gelatinekulturen von Klebs und Brefeld; Ausgang von einem Keime; feuchte Kammern.

Als Klebs l. c. versuchte einen Kokkus unter dem Mikroskope zu fixiren, um seine Theilung direct zu beobachten und so die ganze Reinkultur auf einen einzigen Keim zurückzuführen, gelang ihm dies in Flüssigkeitstropfen nicht, einerseits wegen der Bewegung, welche in dem Tropfen sich einstellte und dann, weil bei Luftzutritt die Concentration der Flüssigkeit durch Verdunstung sich änderte, wodurch der Werth der Flüssigkeit als Nährsubstrat alterirt wurde. Um die Verdunstung der Flüssigkeit aufzuheben oder doch zu beschränken und die Bewegungen zu verhindern, wandte Klebs statt der gewöhnlichen Nährlösungen als Kulturboden gekochte Hausenblase an, welche beim Abkühlen erstarrte.

Um nun weiter einen einzelnen, der in der Hausenblase befindlichen Kokken zu fixiren, bediente sich Klebs der v. Recklinghausen-Geissler'schen Kammern. Bei diesen, Fig. 17, führt ein Zu- und Ableitungsrohr zu einem mittleren Raume aus deckglasdickem Glase, dessen Ober- und Unterseite sich in der Mitte fast berühren, so dass hier ein kleiner capillarer Raum vorhanden ist. Saugt man diese Kammer voll Wasser, Nährflüssigkeit oder verflüssigte Gelatine, so bleibt, wenn man diese Lösungen wieder ausfliessen lässt, in den mittleren Verengerungen ein capillarer Tropfen

hängen. Enthielten diese Lösungen gleichzeitig Keime und zwar soviel, dass jeder Tropfen ungefähr einen Keim führte, so wird in vielen Fällen auch der hängengebliebene Tropfen einen Keim enthalten, den man mit starken Trockensystemen leidlich fixiren und beobachten kann. Klebs füllte nun bald die ganze Kammer mit

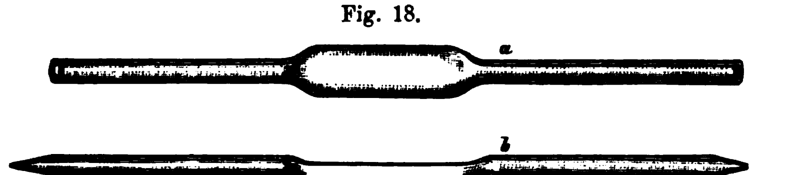
Fig. 17.



Gelatine oder Hausenblase, wodurch der Luftzutritt zu dem centralen Theile verhindert wurde, bald liess er nur den einen Tropfen in der Kammer, sorgte aber dann dafür, dass die Luft durch Baumwolle filtrirt zutrat.

In andern Fällen wandte Klebs statt der Kammer mit capillarem Raum, eine solche an, deren Wände parallel verliefen, und bei denen die Seitenröhren sich etwas unterhalb der oberen Wand ansetzten. Diese Kammern, der Beschreibung nach den von mir

Fig. 18.



benutzten ähnlich, b in Fig. 18, füllte er nun (l. c. S. 46), durch Ablaufenlassen der überschüssigen, flüssigen Gelatine derart, „dass eine dünne Schicht die abwärts gekehrte, zur mikroskopischen Untersuchung bestimmte Wandung bedeckte". Etwaige in dieser Schicht fixirten Keime kann man mit starken Trockensystemen und schwächeren Immersionssystemen fixiren und ihre Entwicklung direct beobachten. Statt der Luft kann man auch verschiedene Gase zutreten lassen.

Brefeld[1]) suchte sich, zunächst für Pilze, ein ganz reines Ausgangsmaterial zu verschaffen, um, von einem einzigen Keime ausgehend, die ganze Entwicklung eines Pilzes lückenlos zu verfolgen. Diese zunächst nur morphologisch-entwicklungsgeschichtliche Ziel verfolgende Methode wandte Brefeld später, ausführlich erst 1881, auch auf die Bakterien an, und erwies ihre Brauchbarkeit durch die Entwicklungsgeschichte des bacillus subtilis. „Durch Mischen der Keime mit Wasser (l. c. c. 1881, S. 12) bis zu einem Grade, dass in einer bestimmten Menge meist kein einziger, oder auch nur ein einziger Keim vorhanden ist, lässt sich die Trennung in einzelne Keime bis zu den kleinsten Formen ohne eine directe Beobachtung empirisch durchführen". „Es setzt diese Methode der Trennung eine vollkommen gleichmässige Vertheilung der einzelnen Keime in der Flüssigkeit voraus. Diese ist nicht immer leicht zu erreichen, und so können sich, wenn man nicht sehr vorsichtig und kritisch zu Werke geht, leicht mehrere und damit fremde Keime in die Kulturen einschleichen". Brefeld verdünnte die Sporen oder Keime enthaltende Flüssigkeit empirisch mit Wasser oder Nährflüssigkeit (l. c. b S. 49), „bis ein mit einer spitzen Nadel herausgenommenes und auf den Objectträger übertragenes Tröpfchen, mit dem Mikroskope besehen, nur eine oder zwei Sporen aufweist." „Der Objectträger mit der einen auf ihn übertragenen Spore dient als Unterlage für die Kultur, die hiernach das Prädicat Objectträgerkultur zur Unterscheidung von anderen Kulturformen bekommen hat."

Wenn man nun zu dieser einen Spore einen Tropfen Nährflüssigkeit zusetzte, so wurde die lückenlose Entwicklung durch zwei Momente erschwert, indem einmal der Kulturtropfen verdunstete und durch diese Aenderung der Concentration in seinem Werthe als Nährflüssigkeit herabgesetzt wurde, und indem andererseits fremde Keime eindringen konnten. Es galt demnach, die Verdunstung des Kulturtropfens zu verhindern und die Kultur für

---

[1]) a. Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, Bd. I., 1872, S. 10.
b. Methoden zur Untersuchung der Pilze. Verhandl. der physik. med. Gesellschaft in Würzburg. N. F. VIII. Bd. 1874/75, S. 43.
c. Kulturmethoden zur Untersuchung der Pilze. Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. Bd. IV. 1881, S. 1

die Dauer der Beobachtung nach Aussen abzuschliessen. „Es ist dies (l. c. b S. 52) in zweifacher Weise möglich, einmal durch Veränderung der Kulturlösung, das anderemal durch Anwendung besonderer Objectträger."

„Um die Verdunstung zu verhindern (l. c. c S. 15), kann man die Nährlösungen mit Caraghen oder Gelatine in der Art versetzen, dass sie, bei 30—35 Grad noch flüssig, bis 15 Grad abgekühlt, fest werden. In diesen gelatinirten Lösungen wachsen die Pilze wie in dünner Flüssigkeit, ihre Entwicklung ist eher begünstigt, als geschädigt. Man kann die Kultur ohne Gefahr umdrehen, um zu verhindern, dass fremde Keime einfallen; und wenn man sie auf Deckgläsern ausführt, kann man sie umgekehrt auch mit starken Vergrösserungen besehen." Diese umgekehrten Objectträger bringt man in eine feuchte Glocke, Fig. 16, S. 122, auf ein Gestell aus Glas oder Zinkblech.

„Will man die gelatinirten Nährlösungen vermeiden (l. c. c S. 15), dann muss man zu besonderen Objectträgern seine Zuflucht nehmen, in welchen die Verdunstung der Nährlösungen und die Invasion fremder Keime unmöglich ist, ohne dass dadurch die Möglichkeit einer continuirlichen Beobachtung im mindesten beeinträchtigt wird."

Zur Beobachtung im hängenden Tropfen dienen die in Fig. 10 und 11 abgebildeten Objectträger. Das Deckgläschen wird durch concentrirte Mineralsäure, Alkohol und Aether gründlich gereinigt, kurz vor dem Gebrauche durch die Flamme gezogen und gegen Staub geschützt, abgekühlt. Dann bringt man einen kleinen flachen Tropfen sterilisirter Nährlösung mit geglühter Platinöse auf die Mitte, impft diesen Tropfen, indem man mit der Platinnadel aus einer Reinkultur eine Spur einträgt, dreht das Deckglas um, legt es über den hohlen Objectträger und zieht zur Vermeidung der Verdunstung einen Rand von Vaseline um das Deckglas.

Statt den Tropfen am Deckglase zu impfen, kann man auch eine sterilisirte Nährlösung in einem Reagirglase mit der Reinkultur impfen, und zwar in dem Grade, dass nach gründlichem Vermischen durch Schütteln eine gleich grosse Probe, als Deckglastrocken-Präparat geprüft, ein bis zwei Keime ergiebt. Man entnimmt dann

hiervon einen Tropfen, den man in derselben Weise am Deckglase befestigt. Brefeld (l. c. c S. 16) verwirft diese Methode: „Der Kulturtropfen kann nur klein genommen werden, sonst läuft er zum Tropfen zusammen, er schwankt bei der geringsten Bewegung, die Keimspore verändert ihre Lage und ist mit starken Vergrösserungen kaum zugänglich; kurz, die Beobachtung ist mühsam und unvollkommen, auch dann, wenn man gelatinirte Nährlösungen anwendet."

Mit den oben geschilderten Vorsichtsmaassregeln lässt sich nach vielen hierauf gerichteten Beobachtungen der hängende Tropfen mit grossem Erfolge verwenden, selbst für die kleinsten Formen der Kokken, sowohl als Flüssigkeitstropfen, wie als gelatinirter Tropfen, um zu sehen, ob eine Bakteriencolonie, welche sich einheitlich bei schwachen Vergrösserungen repräsentirt, aus einem einzigen Keime hervorgehen kann. Dieses Factum ist in vorzüglicher Weise für Hefecolonien von Hansen[1]) ermittelt durch Verwendung gelatinirter, hängender Tropfen, welche gegen Verdunstung geschützt waren. Eine Möglichkeit, diesen bei einiger Uebung so bequem zu handhabenden, auch den schwächeren Systemen für homogene Immersion zugänglichen Tropfen für das Studium der einzelnen Phasen der Entwicklung der Bakterien von Spore zu Spore besser als früher zu benutzen, dürfte darin gegeben sein, dass man Parallelversuche mit der Sporenfärbung macht, welche die einzelnen Phasen zu fixiren gestattet, so dass Bienstock[2]) die Sporenfärbung geradezu statt der directen Beobachtung anwandte, was mir allerdings durchaus ungenügend zu sein scheint.

Fig. 19.

Prazmowski[3]) bediente sich, um Luftzutritt zu gestatten,

[1]) Ueber das Zählen mikroskopischer Gegenstände in der Botanik. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie 1884, Bd. I., S. 191.

[2]) Zeitschrift für klin. Med. 1884, S. 1.

[3]) Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterien-Arten 1880, S. 10.

der modificirten Ranvier'schen Objectträger, Fig. 19. Diese $2^1/_2$ mm dicken Objectträger tragen eine ringförmige Vertiefung d, e; die von diesem Ringe eingeschlossene Kreisfläche c ist sorgfältig glattgeschliffen und ihr Niveau liegt etwas tiefer (für Bakterien am besten nur 0,5 mm) als die Fläche des Objectträgers, so dass nach Auflegen des Deckglases b zwischen c und b eine dünne Flüssigkeitsschicht Platz hat; ist der Abstand grösser, so kann man nur hängende Tropfen machen. Die ringförmige Vertiefung, welche zur Aufnahme von etwas Wasser dient, verläuft bei e in eine kleine Rinne. Man bringt dann auf die Kreisfläche c einen Tropfen der sterilisirten Lösung, welche geimpft wird, oder einen eine annähernd bestimmte Zahl von Bakterien oder Sporen enthaltenden Tropfen, legt dann das vorher durch die Flamme gezogene Deckglas b auf, umrandet es mit Vaseline oder Wachs, so dass, um zu starke Verdunstung zu verhindern, nur bei der Rinne e Luft eintreten kann, welche von der ganzen Rinne her Zutritt findet zu der zwischen c und b eingeschlossenen Flüssigkeitsschicht. Diese letztere ist in ihrer ganzen Tiefe für starke Trockensysteme und schwache Immersionssysteme zugänglich.

Brefeld wählte um einen Keim zu fixiren erst, wie Klebs, die von Recklinghausen-Geissler'schen Kammern, Fig. 17. Aber (l. c. c 1881, S. 17) „der capillare Tropfen ist nach seiner Ansicht für die kleineren Formen zu tief, die Masse der Flüssigkeit zu gross, daher kommen die Bewegungen bei den geringsten Einflüssen, die gar nicht zu vermeiden sind, während man beobachtet, die aber schon ausreichen, eine Verschiebung des eingestellten Keims zu veranlassen. Die Keime müssen fixirt werden, indem man die Menge der umgebenden Nährlösungen so reducirt, dass die Bewegungen minimale werden, dass aber die Menge der umgebenden Nährlösung doch ausreicht für den Keim, um seine volle Entwicklung zurückzulegen. Dies erreicht man nur in dünnen Flüssigkeitsüberzügen. Um sie auf der Innenwand der Kammer herzustellen, so dass die stärksten Linsen heranreichen, muss man andere kleine Kammern anwenden, die keinen capillaren Raum haben, die von dem dünnsten Glase in Deckglasdicke gemacht, so flach auf beiden Seiten sind, dass innen ein gleichmässiger Ueberzug entsteht, und dass auf der glatten, gleichmässig dicken Fläche die Fixirung eines Keimes mit

starken Trockensystemen tagelang ohne Störung möglich wird. Es ist rathsam, den Kammerraum nicht grösser zu machen, als es nach der technischen Herstellung der Kammer eben nöthig ist. Man saugt die reinen Kammern voll, lässt ausfliessen und stellt die einzelnen auf den Innenwänden in dem dünnen Ueberzuge von Nährlösung haften gebliebenen Keime ein. Die Menge der Keime, die man den Nährlösungen zumischt, kann hier weit zahlreicher sein; es bedarf keiner vorherigen Probe ihre Menge zu bestimmen, ebensowenig bedarf es langen Suchens, sie auf den Wänden zu finden. Es gelang mir so, ohne alle Mühe, die Keime von bacillus und von anderen Bakterien für unbegrenzte Zeit zu beobachten und hier geschlossene Entwicklungsreihen herzustellen, wie bei grösseren Pilzen. Dabei ist es auf das leichteste möglich, die Zeitdauer zu ermitteln, welche für die Wachsthums- und Theilungsvorgänge und schliesslich für den Kreislauf der Entwicklung von Spore zu Spore nöthig ist.

Die Anwendbarkeit dieser Kammern für die Untersuchung der Spaltpilze reicht bis zu den kleinsten Formen hinab, die überhaupt noch mit den stärksten Trockensystemen der Beobachtung zugänglich sind."

Brefeld bediente sich Kammern der Form a, Fig. 18, welche Geissler herstellt. Ich bediene mich der Form b, gleichfalls von Geissler hergestellt. Nach meinen Versuchen gelingt es in der That derartig dünne Ueberzüge von Flüssigkeit herzustellen, wenn die Kammern durch Mineralsäure, Alkohol, Aether, Hitze auf's sorgfältigste gereinigt und sterilisirt sind. Mit grossem Vortheil kann man, wie Klebs schon 1873 mit ähnlichen Kammern es machte, eine dünne Gelatineschicht herstellen. Ich habe in solchen Gelatineschichten die Bildung von Colonien, welche mit blossem Auge sichtbar wurden, für einzelne Formen von einem Keime aus verfolgt und in Ueberzügen von Bouillon, Agar und Gelatine die Bildung und Auskeimung der Arthrosporen der Kommabacillen ermittelt. Bei der von mir gewählten Form konnte ich homogene Immersion $^1/_{12}$ mit schwachem Ocular verwenden. Bei allen diesen Kammern bedarf man in der Regel eines der gebräuchlichen heizbaren Objecttische.

Für die lückenlose Ermittelung des Kreislaufs von Spore zu Spore dürften diese Kammern mit parallelen Wänden zur Zeit wohl das meiste leisten. Für orientirende Versuche ziehe ich aber die weit bequemeren Beobachtungen im hängenden Tropfen vor.

5. Verdünnungs-Methode.

Haubner[1]) hatte schon 1852 Verdünnungen systematisch angewendet um über die Natur des Fermentes der sogenannten blauen Milch Aufschluss zu erhalten. Er verdünnte derartige Milch stark mit Wasser und fand die Mischung, in welcher das Ferment „gleichmässig suspendirt" war, auch in geringen Mengen impfkräftig. Diese Art der willkürlichen Verdünnung ist für Bakterien vielfach noch jetzt üblich. Brefeld hat unbestritten das Verdienst, seit 1872 darauf bestanden zu haben, für Mikroorganismen derartige Verdünnungen systematisch vorzunehmen und zwar derart, dass in einer bestimmten Flüssigkeitseinheit nur ein Keim vorhanden sein soll. Brefeld erwies die Ausführbarkeit, wie schon erwähnt, für Schimmelpilze, Pasteur weniger genau für Hefe. Die Möglichkeit, auf diesem Wege auch bei den Bakterien Reinkulturen zu gewinnen, wurde 1877 von Nägeli[2]) schroff in Abrede gestellt.

„Spaltpilze gestatten mit Sicherheit keine Reinkultur, theils wegen ihrer ausserordentlichen Kleinheit, theils wegen ihrer allgemeinen Verbreitung im Wasser und in der Luft". Nicht um solche, nach seiner damaligen Mittheilung ganz aussichtslose Versuche zu Reinkulturen zu machen, sondern um die „Vermehrungsfähigkeit der Spaltpilze" nach der Intensität der Veränderung des Substrats zu schätzen, gab damals Nägeli eine Verdünnungsmethode an, indem er eine bestimmte Menge Schizomyceten haltige Flüssigkeit mit bestimmten Mengen sterilisirtem Wasser verdünnte. Nach Darlegung einer interessanten Gleichung mit lauter unbekannten Grössen kam Nägeli selbst (l. c. S. 646) zu dem Schlusse: „Die Auflösung

[1]) Magazin für die gesammte Thierheilkunde, 1852, Bd. 18, S. 1.

[2]) Nägeli und Schwendener: Das Mikroskop. 2. Aufl. 1877, S. 644.

dieser Gleichung kann nur durch Probiren geschehen." Dieser Modus der Verdünnung, der einem ganz anderen Zweck diente, kann auf jeden Fall nicht dazu dienen, Nägeli die Priorität zuzuerkennen.

Während die Verdünnung, wenn sie nach Brefeld zur lückenlosen Lösung morphologisch-entwicklungsgeschichtlicher Fragen dient, ein möglichst reines Ausgangsmaterial liefern soll, ohne dass dies aber in allen Fällen wegen der fortlaufenden mikroskopischen Beobachtung absolut nöthig ist, muss die Verdünnung, wenn sie zur Lösung einer experimentellen physiologischen oder pathologischen Frage dient, ein absolut reines Material, eine absolute Reinkultur liefern, weil hierbei vom Momente der Uebertragung an die laufende Controle durch das Mikroskop in Wegfall kommt.

Der erste, welcher für Bakterien mit positivem Erfolge und zum Zwecke der Gewinnung von Reinkulturen in diesem Sinne die Verdünnung soweit trieb, wie Brefeld für Schimmelpilze und Pasteur für Hefe, war Lister. Lister[1]) theilte 1878 mit, dass er saure Milch so verdünnt habe, dass ein Tropfen einen Keim enthalten sollte. impft er nun sterilisirte Milch mit 2 bis 4 Tropfen der Verdünnung, so erhielt er regelmässig Säurung und Gerinnung, weniger sicher, wenn er von einem Tropfen ausging, weil in letzterem Falle wohl nicht jeder Tropfen auch wirklich einen Keim enthalten hatte.

Fitz[2]) bediente sich bei seinen Gährungsversuchen gleichfalls der Verdünnungsmethode, die er allein als die „Ein-Zell-Kultur" gelten lässt: „Um eine Reinkultur eines gährungserregenden Spaltpilzen zu gewinnen, ist es unbedingt nothwendig, von einer einzigen Zelle als Aussaat auszugehen." „Man bestimmt in einer gewöhnlichen, noch unreinen Kultur mit Hülfe einer Zählkammer annähernd die Zahl der Spaltpilzzellen, die in einem Tropfen enthalten sind, und verdünnt dann einen Tropfen so stark mit sterilisirtem, destillirtem Wasser, dass im Durchschnitt auf 5 bis 10 Tropfen der verdünnten, gut gemischten Flüssigkeit eine Spaltpilzzelle kommt. Man sät dann in einer Serie von ca. 50 mit Kulturflüssigkeit be-

---

[1]) On the lactic fermentation and its bearings on pathology. Transactions of the Pathological Society of London 1878. Bd. XXIX.

[2]) Ueber Spaltpilzgährungen. VII. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft. XV. Bd. 1882, S. 867.

schickten und sterilisirten Kölbchen je einen Tropfen aus und setzt sie alsdann in ein Thermostrat von 37°. Von den 50 Kölbchen werden im Laufe der nächsten drei Wochen 5 bis 10 Kölbchen Pilzentwicklung zeigen. In einem jeden dieser Kölbchen wird die Pilzkultur unter sich einheitlich und rein sein, weil sie von einer einzigen Zelle abstammt. Man erhält so die verschiedenen Spaltpilze, die in der ursprünglichen unreinen Kultur enthalten waren, jeden für sich isolirt."

Für pathogene Bakterien, speciell für Milzbrandbacillen, verwandte Buchner[1]) die Verdünnungsmethode, indem er Milzpulpa zerrieb und mit sterilisirtem Wasser so stark verdünnte, dass auf ca. 10 ccm eine einzige Bakterie kam. Mit solchen, einen Keim enthaltenden 10 ccm wurden dann die sterilisirten Nährlösungen inficirt.

Auch Nägli theilte 1882 in demselben Werke, S. 13, einen Versuch mit, den er bereits 1871 ausgeführt hatte, so dass seine schroffe Negation von 1877 über die Unmöglichkeit der Gewinnung von Reinkulturen der Bakterien durch Verdünnung schwer verständlich wird, wenn er sich 1871 schon wirklich über den Werth der Verdünnung klar gewesen sein sollte. Er verdünnte faulen Harn so stark mit Wasser, dass je 2 Tropfen einen Bakterienkeim enthielten; durch Uebertragung je eines Keimes in ein Glas mit sterilisirter Lösung gelang es ihm damals aus dem Harn Kokken und Stäbchen zu trennen.

Aehnlich verfuhr Hansen[2]) indem er für Hefe die Verdünnung so weit trieb, dass erst 2 ccm eine Zelle enthielten.

Zur Zählung der Anzahl der Keime in der ursprünglichen Flüssigkeit sowohl, als in den verdünnten Lösungen, bringt man eine bestimmte Menge in einen Blutkörperchen-Zählapparat. Man kann hierzu die Kammer von Hayem-Nachet wählen. Dieselbe, Fig. 11, S. 45, besteht aus einem Objectträger A, B, auf dem eine mit kreisförmigem Ausschnitt c versehene Glasplatte b von ganz

---

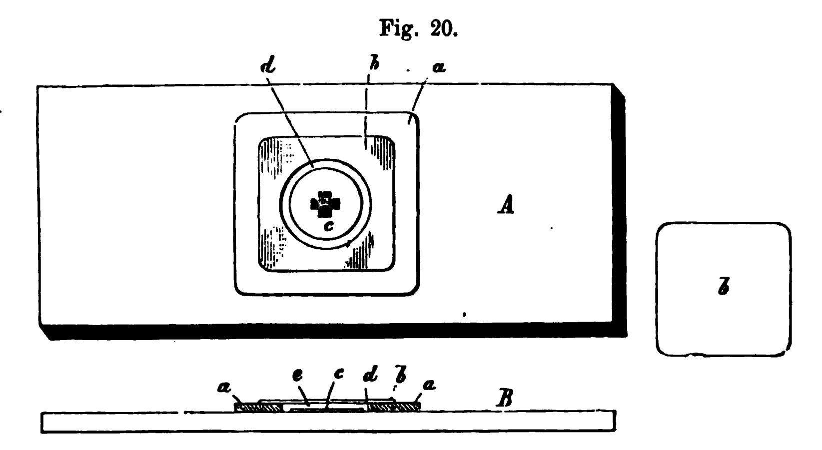
[1]) Ueber die experimentelle Erzeugung des Milzbrandcontagiums aus den Heupilzen. Untersuchungen über niedere Pilze von Nägeli 1882, S. 147.

[2]) Ueber das Zählen mikroskopischer Gegenstände in der Botanik. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie. I. Bd. 1884, S. 191.

bestimmter Dicke, 0,2 mm, oder für Bakterien noch besser 0,1 mm Dicke, befestigt ist, wie sie Zeiss liefert. Durch Auflegen eines sehr sorfältig geschliffenen Deckglases d entsteht ein von parallelen Wänden eingeschlossener Raum, von genau 0,2 oder 0,1 mm Höhe, welcher eine ganz bestimmte Menge, eine Volumeneinheit, Flüssigkeit fasst. Die Zählung geschieht dann mit Hülfe eines Ocular-Netzmikrometers. Die Flüssigkeit muss den Raum genau füllen, das Deckglas berühren, ohne überzutreten.

Noch feineres Arbeiten gestattet die Modification, Fig. 20, welche von Thoma[1]) angegeben ist und von Zeiss ausgeführt wird.

Fig. 20.



Auf einen Objectträger A, B ist eine oben polirte Glasplatte a befestigt, deren kreisförmiger Ausschnitt d die seitliche Kammerwand bildet. In diesem Ausschnitte ist eine kreisförmige Glasplatte c aufgekittet, welche so stark ist, dass der Raum e zwischen ihr und dem aufgelegten Deckglase b, der eigentliche Zählraum, genau 0,1 mm beträgt; a und c sind sorgfältig parallel zur Oberfläche des Objectträgers geschliffen; ebenso muss die Deckplatte b so sorgfältig planparallel geschliffen und so gereinigt sein, dass sich bei Andrücken derselben an die polirte obere Fläche der Kammer Newton'sche

[1]) Abbé: Ueber Blutkörper-Zählung. Sitzungsberichte der Jenaischen Gesellsch. f. Med. u. Naturwissenschaft 1878, No. 29. — Lyon und Thoma: Ueber die Methode der Blutkörper-Zählung. Virchow's Archiv 1881. Bd. LXXXIV, S. 131.

Farbenringe bilden, welche bei Nachlassen des Druckes bestehen bleiben. Die Mischung geschieht mit einem, auch für die ersten Zählkammern zu verwendenden Mischgefäss. Da genaue Gebrauchsanweisung den Apparaten beigegeben wird, genügen diese Daten. Der Vortheil der Thoma'schen Kammer besteht darin, dass das Ocular-Mikrometer wegfällt, weil in die Platte c eine Gittertheilung, 1 qmm in 400 quadratische, gleichgrosse Felder eingeritzt ist. Man braucht deshalb den absoluten Werth eines Theils, der sich bei jedem Objectiv und jeder Tubuslänge ändert, gar nicht zu kennen, wie bei einem Ocular-Mikrometer.

Man mag aber die Zählung noch so genau, die Mischung noch so sorgfältig vorgenommen haben, eine absolute Sicherheit für den Ausgang von einem Keime giebt auch die Verdünnungsmethode als „Ein-Zell-Kultur“ nicht. „Mängel haften, wie Hansen trotz seiner trefflichen Ermittelungen unumwunden zugiebt, auch dieser Methode an; namentlich ist es nicht sicher, ob die Anzahl Zellen, welche man im Voraus berechnet hat, sich wirklich im Kolben mit der fertigen Infectionsflüssigkeit befinden; es kann sogar vorkommen, dass nicht eine einzige Zelle hineingelangt ist, ferner auch, dass sich mehrere, als man gewünscht hatte, vorfinden.“

Die Verdünnungsmethode kann auch in der besten Form dem theoretischen Postulate des Ausgangs von einem Keime nur bedingt gerecht werden. Jede Verdünnungsmethode, mag sie nun in Flüssigkeiten oder in Lösungen ausgeführt werden, welche bei gewissen Temperaturen erstarren und dadurch aufhören flüssig zu sein, hat damit zu rechnen, dass auch beim sorgfältigsten Mischen eine vollständige Trennung der einzelnen entwicklungsfähigen Keime bei Bakterien kaum erreichbar ist. Die Sporen der Schimmelpilze sind an sich schon gut isolirt, die Hefezellen sind verhältnissmässig lose verbunden, auch die endogenen Sporen der Bakterien lösen sich relativ leicht aus einem ursprünglich festeren Verbande; die Arthrosporen dagegen, die vegetativen Zellen und die Ruheformen der Ketten und Fäden sind meist durch Vergallerten der Membranen in so innigem Zusammenhange, oft geradezu in festen Gallertmassen verbunden, dass eine vollständige Trennung in die Einzelzellen oder noch allgemeiner in

die einzelnen entwicklungsfähigen Keime unmöglich werden kann. Derartige, in Folge einheitlicher Genese artlich zusammengehörige, verhältnissmässig feste Verbindungen werden dann am wenigsten stören, wenn es sich darum handelt, die **Verdünnungsmethode zur Trennung einer bestimmten Art von anderen Arten** zu benutzen.

Für diesen Zweck kann man ein ursprünglich unreines Material vorbereiten, wie es auch fasst ausnahmslos von den Forschern geschehen ist, welche sich zu diesem Zweck der Verdünnungsmethode mit Erfolg bedient haben. Man bereitet ein schon möglichst reines, einheitliches Ausgangsmaterial durch **Massenkulturen** vor, unter Zuhülfenahme secundärer Momente, welche sich nach Brefeld (l. c. c 1881, S. 12), „aus der abweichenden Lebensweise und aus anderen morphologischen und physiologischen Eigenthümlichkeiten der verschiedenen Formen herleiten lassen." Mit dieser Vorbereitung ist die bis zur Ein-Zell-Kultur getriebene Verdünnung oft vorzüglich brauchbar zur Isolirung von einzelnen pathogenen Organismen, noch mehr von Fermentbakterien, deren Existenzbedingungen man schon annähernd kennt, oder aus der Art ihres spontanen Vorkommens vermuthet. Das durch die Reinkulturen erst zu beweisende, die Biologie der Bakterien, wird in diesen Fällen demnach provisorisch als schon bekannt vorausgesetzt.

Man wählt Nährflüssigkeiten, von welchen man bestimmt weiss, oder vermuthet, dass sie die supponirte Gährung eingehen können, impft dieselben mit einer Spur oder einem Tropfen des noch unreinen Ausgangsmaterials, bringt diese so geimpften Kölbchen bei **Luftzutritt** in höhere oder niedere **Temperatur,** überträgt nach eingetretener Entwicklung ein zweites Mal, bis man eine leidliche Reinkultur eines Organismus hat, wie bei den Methoden 1 und 2.

Andere solcher Kölbchen hält man unter **Luftabschluss,** wenn man vermuthet, dass die betreffende Fermentation besser bei Beschränkung oder Abschluss von Luftsauerstoff vor sich geht[1]), wie

[1]) Fitz: Ueber Spaltpilzgährungen. IX. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1884. Bd. XVII, S. 1188.

bei den Experimenten über Anaerobiose noch genauer dargelegt wird. Nach einigen derartigen Uebertragungen hat ein Organismus und zwar bei richtiger Wahl der Bedingungen im Gegensatze zu den früheren fractionirten Kulturen ein bestimmter Organismus das Uebergewicht erhalten, sodass andere Organismen an Zahl erheblich zurücktreten. Nun erst nimmt man die Zählung und Verdünnung vor, und dann die Impfung sterilisirter Nährlösungen mit den Volumeneinheiten mit je einem supponirten Keime.

Unter diesen Massenkulturen bedarf

die Erhitzungsmethode,

noch einer kurzen Erläuterung.

In allen Fällen, in denen nach kürzerem oder längerem Einwirken der Siedehitze oder einer dieselbe noch übersteigenden Temperatur in Flüssigkeiten später Bakterienvegetation eintrat, ermittelte Cohn[1]) zuerst, dass es sich immer um endogene Sporen bildende Bakterien handelte, deren Sporen auf kürzere oder längere Zeit den hohen Temperaturen widerstanden. Miquel[2]) isolirte einen Ammoniak bildenden „bacillus ureae" aus Abwässern, in denen seine Sporen vorhanden waren, dadurch, dass er Gläser mit diesem sporenhaltigen Wasser auf 108° erhitzte; van Tieghem[3]) gewann den bacillus amylobacter (clostridium butyricum) durch Erhitzen seiner Sporen auf 100° rein. Brefeld[4]) fand, dass zur Vernichtung der Sporen des bacillus subtilis nöthig waren, dreistündiges Kochen bei Siedetemperatur, oder eine Wärme des Oelbades von 105° $^1/_4$ Stunde, von 107° 10 Minuten, von 110° 5 Minuten. Durch Abkürzung dieser Zeit kann man diese Bacillen rein von allen weniger widerstandsfähigen erhalten. Prazmowski[5]) bediente sich zur Erzielung und Erhaltung von Reinkulturen der sporenbildenden Bacillen und

[1]) Untersuchungen über Bakterien, Bd. IV; die Bakterien und die Urzeugung. Beiträge zur Biologie der Pflanzen. II. Bd., Heft 2, 1876, S. 249. Vergl. auch die Literatur im ersten Abschnitt und über Sporenfärbung.

[2]) Bulletin de la société chimique de Paris 1879. Bd. XXXII, S. 127.

[3]) Bulletin de la société botanique de France 1879. Bd. 26, S. 25.

[4]) Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, Bd. IV, 1881, S. 51.

[5]) Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterien-Arten, 1880, S. 8.

Clostridien des kürzeren oder längeren Aufkochens der sporenhaltigen Flüssigkeiten. Ohne Rücksicht auf diese Ermittlungen hat dann Gunning[1]), ausgehend von einer missverständlichen Auffassung der Methode der durchsichtigen festen Nährmedien, vorgeschlagen, die höheren Temperaturen systematisch zu verwenden zur Isolirung der verschiedenen Bakterien. Gunning selbst isolirte dabei allerdings, wie alle vor ihm, eine sporenbildende Art.

Bei systematischer Prüfung dieser Methode durch Verwendung von sporenfreien und sporenhaltigen Reinkulturen verschiedener Bakterienarten ermittelte ich, was allerdings für jeden mit der Biologie der Bakterien Vertrauten vorauszusehen war, dass man auch durch systematisches Erhitzen unterhalb, bei und oberhalb der Siedetemparatur immer nur die widerstandsfähigeren von den weniger resistenten trennen kann, derart, dass sich für praktische Zwecke ausschliesslich die Trennung sporenhaltiger Bakterien von sporenfreien empfiehlt. Sind zwei annähernd resistente Sporenarten vorhanden, so ist durch kürzeres oder längeres Erhitzen allein eine genügende Trennung nicht zu erreichen. Das Verfahren, durch Erhitzen leidliche oder ganz reine Massenkulturen zu gewinnen, ist, wie ich schon früher[2]) angab, auf bestimmte Fälle beschränkt, aber für diese auch so gut brauchbar, dass es zur Trennung sporenhaltiger von sporenfreien Bakterien wohl die beste Methode zur Gewinnung von vorbereitenden Massenkulturen, oft selbst von wirklichen Reinkulturen ist.

Schon wenn man sich alle diese physiologischen Vorbereitungen durch Massenkulturen zu Nutze machen kann, muss die Zahl der Einzelversuche bei der Verdünnung eine sehr grosse sein, so dass z. B. Fitz für einen ganz concreten, verhältnissmässig einfachen Fall 50 Einzelversuche verlangt.

Diese Schwierigkeit wächst aber beträchtlich, wenn man sich der **Verdünnungsmethode** bedienen will, **um aus einem Gemische sämmtliche Arten zu isoliren und sie wird noch weit grösser, wenn man die Zahl der entwicklungsfähigen Einzel-Keime zu**

[1]) Beiträge zur hygienischen Untersuchung des Wassers. Archiv für Hygiene, I. Bd., 1883, S. 335.

[2]) Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, II. Bd., 1884, S. 330

ermitteln versucht, weil dann die vorbereitenden Massenkulturen wegfallen und die mehr oder weniger scharfe Trennung in die Einzelkeime von schwankenden Momenten und von Manipulation abhängt, welche wie die Art und Intensität des Schüttelns und Mischens von Fall zu Fall wechseln, wenigstens nie ganz gleichmässig sind. Man wählt zu derartigen Verdünnungen eine der angegebenen universell verwerthbaren Arten von Fleischbrühe, am besten die von Löffler angegebene. Je nach der approximativ geschätzten Zahl der Keime kann man eine Einheit, z. B. einen Tropfen der bakterienhaltigen Flüssigkeit nach gehörigem Schütteln direct in ca. 50 kleine Flaschen oder Rangirgläser mit Nährlösung vertheilen, oder man muss die Flüssigkeit noch weiter verdünnen. Die Zahl der Einzelversuche wird dabei ohne jede Rücksicht auf den Grad der Verdünnung von Miquel auf 40 bis 50 angegeben, beschränkt sich in der Praxis aber sogar in der Regel auf etwa 20. Diese Art der Berechnung lässt an Willkürlichkeit nichts zu wünschen übrig. Jeder Fehler wird in einer ganz uncontrollirbaren Weise multiplicirt und macht sich in demselben Maasse mehr störend bemerkbar, als der Grad der Verdünnung gesteigert ist. Soll die Verdünnung wirklich auf leidliche Exactheit Anspruch machen, so muss verlangt werden, dass die Zahl der Einzelversuche zu dem Grade der Verdünnung in einem bestimmten Minimalverhältniss steht. Dass aber dann die Zahl der Einzelversuche schon bei mässigem Gehalte an Organismen in die Hunderte und Tausende gehen muss, setzt einer wirklich correcten Anwendungsweise dieser Verdünnungsmethode Schranken. Soll die Methode praktisch bleiben, so kann sie nicht weniger als 20 und nicht mehr als 50 Einzelversuche verwenden, dann wird aber der Grad der Exactheit in den weitesten Grenzen schwanken, je nachdem das Ausgangsmaterial wenig oder sehr stark verdünnt werden musste. An diese oft recht groben Fehler der rechnerischen Grundlage sollte man mehr denken, wenn die Verdünnungsmethode zur Zählung von Keimen aus Gemischen verwendet wird. Gegenüber diesen Mängeln müssen auch einige Vortheile der Verdünnung in Flüssigkeiten, speciell in Bouillon, angeführt werden. Die Lösungen können jeder

wünschenswerthen Temperatur ausgesetzt werden; eine Luftinfection kann nach dem Verschluss nicht eintreten, in Folge dessen können Arten, welche überhaupt langsam wachsen oder Keime, welche geschwächt sind und deshalb langsam auswachsen, beliebig lange im Versuche bleiben; die Bouillon ist relativ universell verwerthbar, so dass auch viele Arten, für welche sie nicht die beste Lösung ist, so weit heranwachsen, dass man sie mit blossem Auge erkennen kann; die Bouillon gestattet manche Wachsthumseigenthümlichkeiten zu erkennen und dadurch wahrzunehmen, ob verschiedene Arten sich entwickeln.

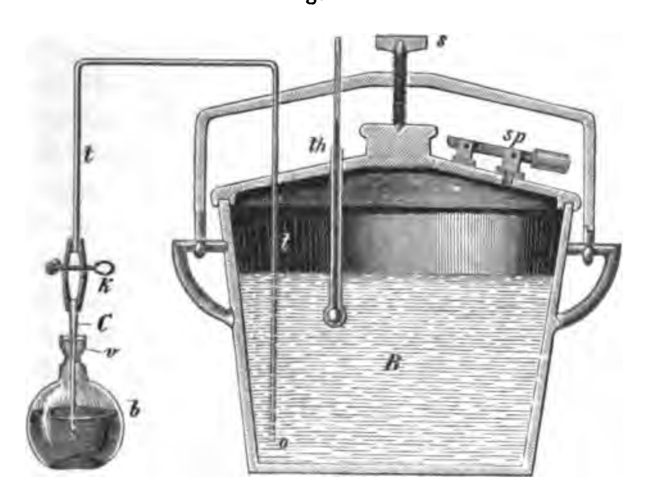
Zu welcher Zahl der Einzelversuche man sich auch entschliesst, immer muss die Verdünnung so stark sein, dass schon in einem Drittel der Gläser keine Keime sich entwickeln; diese nicht inficirten Gläser dienen dann gleichzeitig als Controle. Zur Ausführung der Methode hat man zwei Wege eingeschlagen. Man verdünnt entweder **eine bestimmte Einheit, einen Tropfen, einen ccm der organismenhaltigen Flüssigkeit mit einer bestimmten Menge sterilisirtem destillirtem Wasser,** 10-, 100-, 1000-, 10,000-, 100,000fach und überträgt von einer derartigen Mischung je eine solche Einheit, 1 Tropfen, 1 ccm, in ein Reagirglas oder Kölbchen mit der sterilisirten Normallösung. Zur möglichsten Vermeidung der Luftinfection beim Mischen nimmt man für die Verdünnung recht praktisch ein Kolben mit dem Pasteur'schen Verschlusse und für die Einzelversuche die von Freudenreich-schen kleinen Kölbchen mit demselben Verschlusse; wählt man Reagirgläser mit einfachem Watteverschluss, so hält man dieselben während des Impfens möglichst schief. Das Oeffnen, Impfen und Schliessen der Kolben, Kölbchen und Reagirgläser muss sehr schnell an einem möglichst staubfreien Orte geschehen.

Da die Gefahr der Luftinfection sich bei jedem Einzelversuche in schwer controlirbarer Weise wiederholt, hat Fol[1]) versucht, diesen möglichen Fehler aller bisherigen Versuchsanordnungen nur einmal zuzulassen, alle anderen Manipulationen aber so einzurichten, dass die Gefahr des Luftzutritts möglichst beseitigt wird. Fol nimmt zu diesem Zweck die **Verdünnung** nicht

[1]) Archives des sciences physiques et naturelles, Bd. XI, 1884, S. 557 und La Nature 1885, No. 615 und 619.

in sterilisirtem Wasser sondern **in der Nährlösung selbst** vor und vertheilt dann erst die inficirte und verdünnte Lösung in die kleinen Kölbchen. Er verfährt dabei in einer Weise, deren Princip zunächst durch die Figur 21 klar werden dürfte. Die Flüssigkeit B wird längere Zeit bei 110° gehalten, während das Ende des längeren Schenkels des durch trockene Hitze sterilisirten Metallhebers über dieser Flüssigkeit bei t steht; mit dem anderen Ende wird der gleichfalls vorher schon sterilisirte Trocart C (cf. Fig. 15 [3])

Fig. 21.

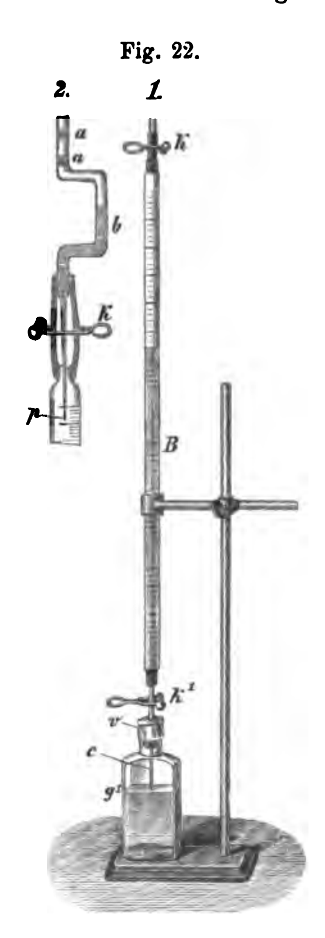


durch einen starkwandigen sterilisirten Kautschukschlauch fest verbunden. Die Klemmpinzette k, welche geschlossen ein Entweichen der gespannten Dämpfe verhindert, wird dann geöffnet, so dass ein heftiger Strahl des überhitzten Dampfes die Röhre t und den Trocart etwa 10 Minuten durchströmt. Ist auf diese Weise die ganze Verbindung definitiv sterilisirt, so wird die Klemme wieder geschlossen und dann der Trocart C durch den Verschluss v des Kolbens b hindurchgestossen; zu diesem Zwecke wird der Wattepfropf b (Fig. 12 [2 und 3]) abgenommen und geschützt zur Seite gelegt, so dass die hohle Stahlnadel nur die Asbestschicht a und die darunter befindliche dünne Watteschicht w durchdringt. Dann senkt man das Ende der Röhre t in die Flüssigkeit B bis o ein und lässt unter Oeffnen der Klemme k die Flüssigkeit nach b übertreten, so-

bald dieselbe etwas abgekühlt ist. Nach dem Füllen des Kolbens b wird die Klemme k wieder geschlossen, der Trocart herausgezogen und der Watteprpf b der Fig. 12 (2 und 3) wieder aufgesetzt.

Zur Anwendung des Princips für die Verdünnung dient die Bürette, Fig. 22 (1. B.); dieselbe fasst 100 ccm, ist sehr genau graduirt und oben und unten zur Verbindung mit dicken Kautschukschläuchen etwas ausgezogen. Diese Bürette wird durch einen Strom schwefeliger Säure, der aber auch fort bleiben kann, gereinigt und dann zur Sterilisirung und eventuell zur Vertreibung der schwefeligen Säure mit dem Papin'schen Topfe, Fig. 21, so verbunden, wie der Trocart C. Dann lässt man unter Oeffnen der Klemme k und k[1] des Kautschukschlauches eine halbe Stunde lang überhitzte Dämpfe durchströmen, schliesst darauf zuerst die untere Klemme k[1] und fügt in das freie Ende des Kautschukschlauches ein durch Hitze sterilisirtes Glasstäbchen; dann verfährt man mit der oberen Klemme k und ihrem Kautschukschlauche ebenso. Nach dem Abkühlen ersetzt man zuerst das untere Glasstäbchen durch eine sterilisirte Canüle c, welche man in der vorher geschilderten Weise in eine Flasche g[1] mit sterilisirter und durch längeren Aufenthalt im Brütofen geprüfter Bouillon einstösst. Da in Folge der Abkühlung und Condensation der Dämpfe die Luft in B verdünnt ist, steigt bei Oeffnen der Klemme k[1] die Bouillon durch die Canüle c in die Bürette B, wobei ein Theil der gelösten Luft gasförmig entweicht. Nach Schluss der Klemme k[1] führt man die keimhaltige, zu verdünnende Flüssigkeit, welche sich in der Glasröhre b (Fig. 22 [2]) befindet, in der Weise ein, dass das

Fig. 22.



Ende p an Stelle des oberen Glasstabes über der Klemme k in den Kautschukschlauch eingebrachtwird.

Die Röhre b wird zum Gebrauche fertig gemacht, indem das eine Ende p zugeschmolzen, das andere mit Asbestpfropfen a verschlossen und das ganze durch trockene Hitze sterilisirt wird; übr das Ende a kommt dann ein mit Pinzette verschlossener Kautschukschlauch. Die Spitze p der so vorbereiteten Glasröhre b wird am Orte der Entnahme noch einmal durch die Flamme gezogen, mit geglühter Scheere abgeschnitten und darauf durch Eintauchen in die bakterienhaltige Flüssigkeit zum Theil, aber nicht ganz gefüllt. Durch Emporrichten der Spitze p wird die Flüssigkeit aus der Spitze entfernt und dieselbe darauf zum Transport wieder zugeschmolzen. Vor dem Einführen in den Kautschukschlauch der Klemme k lässt man durch Oeffnen des über a befindlichen Kautschukschlauches erst einige Tropfen austreten, ehe man den Inhalt von b definitiv zu der Nährlösung in der Bürette B, Fig. 22 (1), eintreten lässt. Die Pinzette über dem Kautschukschlauch a gestattet, die Menge Flüssigkeit, welche man aus b entnehmen will, ganz genau abzumessen. Ist dies geschehen, dann entfernt man wieder die Röhre b, schliesst die Klemme k und mischt den Inhalt B sorgfältig. Die 100 ccm der Mischung, welche die Bürette B nun enthält, werden in etwa 25 Reagirgläsern oder Kölbchen vertheilt, welche den Verschluss Fig. 12 (2) haben, indem die hohle Stahlnadel c in der geschilderten Weise durch den Pfropf a und w durchgestossen und nach Herausziehen der Nadel der Wattepfropf b, Fig. 12 (2), wieder aufgesetzt wird. Die Nadel wird gegen die freie Luft geschützt, indem man sie in einer Hülse unterbringt, welche aus einem mit Asbestpfropf versehenen Glasröhrchen besteht.

6. Kulturen in Haarröhrchen nach Salomonsen.

Bei der spontanen Veränderung des Blutes durch Fäulniss beobachtete Salomonsen[1]), dass sich im Blute schwarze „Fäulniss-

[1]) Zur Isolation differenter Bakterienformen. Botanische Zeitung 1876, No. 39; Studier over Blodets Forraadnelse 1877; Eine einfache Methode zur Reinkultur verschiedener Fäulnissbakterien. Botanische Zeitung 1880, No. 28. Bakteriologisk Teknik 1885.

flecke" durch Reduction des Oxyhämoglobin bilden, welche am Boden kreisrund und scharf contourirt, nach obenzu mehr keulenförmig sind, die sich allmählich vergrössern, berühren und dann eine diffuse dunklere Färbung der ganzen Blutmasse hervorrufen. So lange diese Flecke noch isolirt sind, besteht jeder solcher Fleck nach Salomonsen aus einer einzigen Bakterienart, welche durch ihre Vegetation die Farbenveränderung des Blutes bewirkt. Jeder solcher Fleck ist eine Colonie, eine ächte Reinkultur einer einzigen Art. Saugt man nun frisches oder difibrinirtes Blut in Haarröhrchen ein, so entstehen in dem Blute in diesen Röhrchen gleichfalls derartige isolirte Fäulnissflecke. Statt wirklicher Capillarröhren, Lymphröhrchen, kann man auch feine Glasröhren verwenden, welche an einem Ende zur Capillare ausgezogen werden, Fig. 23. Unter den so entwickelten Colonien bemerkt man mit schwächeren Vergrösserungen, z. B. mit der Loupe, kleine Differenzen in der Grösse, der Schnelligkeit des Wachsthums und in den Formen (b, c, d, e der 2. Abbildung von Figur 23). Jede solche kleine Differenz ist ein sichtbares Zeichen, dass derartige differente Colonien verschiedenen Bakterienformen ihren Ursprung verdanken. Will man nun eine solche Reinkultur zu Uebertragungen verwenden, so bricht man das Röhrchen in der Nähe durch, taucht eine vorher geglühte Platinnadel ein und überträgt unter schnellem Oeffnen in eine sterilisirte Lösung.

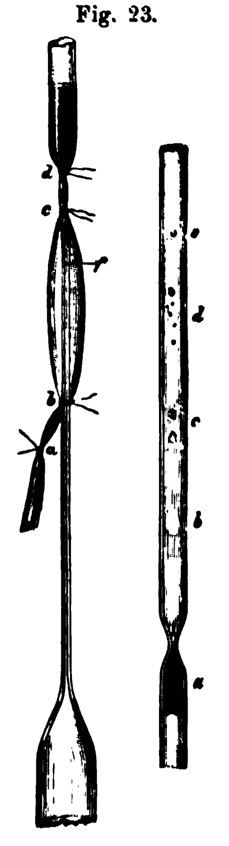
Die Röhrchen erhalten an einem Ende vortheilhaft eine kleine Verengerung oder Knickung, bei welcher (a) Baumwolle oder Asbest eingepresst wird, während das zur Capillare ausgezogene Ende zugeschmolzen ist; das so vorbereitete Röhrchen wird durch Hitze sterilisirt. Das zugeschmolzene Ende wird erst in der Flüssigkeit abgebrochen, durch Saugen an dem mit Watte verschlossenen Ende gefüllt, nach dem Herausnehmen mit Alkohol gereinigt und dann am capillaren Ende von Neuem zugeschmolzen oder mit einem Lack verschlossen.

Aehnlich ist das Entstehen von isolirten Fäulnissflecken, oder überhaupt von Bakterien-Colonien in Substanzen, welche spontan, wie das Blut durch die Bildung der Cruorschicht, fest werden oder gelatiniren, während in wirklichen Lösungen eine solch scharfe Iso-

lirung auch in Haarröhrchen nicht eintritt. Mit Berücksichtigung dieses, damals von Salomonsen noch nicht vollständig erkannten Punktes war diese Methode bis vor wenigen Jahren eine der zuverlässigsten, um wirkliche Reinkulturen zu erzielen.

Entnimmt man Blut von gesunden Thieren, ohne dass mit dem Blute Luft zutreten konnte, direct den Gefässen, so entstehen niemals solche Fäulnissflecke. Man verfährt nach Salomonsen in der Art, Abbildung 1, Fig. 23, dass man das ausgezogene, zugeschmolzene Ende einer sterilisirten Glasröhre in das unter antiseptischen Cautelen blosgelegte und geöffnete Gefäss einbringt und, nachdem erst etwas Blut neben der Röhre ausgeflossen ist, bei b auf die Röhre festbindet. Dann zerbricht man bei f das ausgezogene Ende innerhalb des Gefässes und füllt durch Saugen am entgegengesetzten Ende, welches durch sterilisirte Watte oder Asbest geschlossen ist, die Röhre mit Blut. Darauf legt man die Ligaturen a, c und d, schneidet zwischen a und b, und zwischen c und d durch und schmilzt an der Flamme unterhalb b zu. An dieser Seite konnte zu keiner Zeit des Füllens Luft zutreten, und an der anderen Seite kann nur filtrirte Luft zutreten. Die Röhrchen kommen dann in Thermostate bei Bluttemperatur.

Fig. 23.



Die Glasröhrchen werden, wie ich gefunden habe, am sichersten, ehe sie die definitive Gestalt erhalten, erst mit Sublimatlösung 1 p. M. desinficirt, das Sublimat mit Alkohol entfernt, der Alkohol mit Aether aufgenommen und dieser durch Erwärmen verdunstet. Dann wird das eine Ende ausgezogen und zugeschmolzen, das andere Ende erhält eine leichte Verengerung oder Torsion, und wird bis zu dieser Stelle, wie a in der 2. Abbildung der Figur 23, mit Asbest oder Watte fest gefüllt. Diese so vorbereiteten Röhrchen werden bei 150 bis 160° 1 bis 2 Stunden endgültig sterilisirt und nach dem Abkühlen, unmittelbar vor

der Operation, das einzuführende Ende noch einmal schnell durch die Flamme gezogen.

Zahn[1]) nahm statt solcher Glasröhren Pipetten von 50 bis 300 ccm Inhalt, deren einzuführendes Ende spitz ausgezogen und deren anderes Ende vorläufig an einer Stelle verjüngt wurde. Dann wurde der Ballon der Pipette auf dem Wasserbade oder in der freien Flamme stark erhitzt, während des Erhitzens vielfach die Luft noch ausserdem durch Sauerstoff, Kohlensäure oder Wasserstoff verdrängt, und während des Erhitzens und Durchleitens der Gase sowohl das ausgezogene Ende als die verjüngte Stelle zugeschmolzen. Das Sterilisiren geschah durch hohe Temperatur. Da die Luft in der Pipette durch das Erhitzen verdünnt war, erfolgte nach Abbrechen der Spitze im Gefässe die Füllung in Folge des negativen Druckes. Beim nachherigen Zuschmelzen können, nach Zahn, sich bisweilen feine Risse einstellen, worauf man sorgfältig zu achten hat. Ich überziehe diese Stellen unmittelbar nach dem Abschmelzen sofort mit einer Kuppe von Siegellack.

Auch die von Chamberland eingeführten Kölbchen kann man zur Entnahme von Blut aus einer blosgelegten Arterie oder Vene oder aus dem Herzen benutzen, wenn dasselbe keine Zersetzung erfahren soll. Diese Kölbchen A Fig. 14 (4) S. 119 haben einen Hals a, der mit Wattepfropf versehen ist, und die spitz ausgezogene Capillare b. Dieselben werden durch Hitze sterilisirt und das Ende der Capillare kurz vor dem Gebrauche noch einmal in der Flamme erhitzt und dann schnell in das Gefäss oder das Herz eingeführt; durch Saugen am Halse a kann man das Füllen beschleunigen; nach dem Füllen wird die Spitze von b an der Flamme zugeschmolzen, so dass durch den Pfropf a nur filtrirte Luft zutreten kann.

Stammt das Blut von gesunden Thieren, so trennt sich der Blutkuchen von dem Blutserum; auf dem letzteren bildet sich bisweilen ein feines Häutchen aus feinsten Fetttröpfchen und veränderten Blutplättchen. Die zelligen Elemente zerfallen allmählich einer

---

[1]) Untersuchungen über das Vorkommen von Fäulnisskeimen im Blut gesunder Thiere. Arch. f. pathol. Anatomie 1884, Bd. CXXXXV, S. 401.

regressiven Metamorphose, die Granulationen treten aus. Aber wirkliche Bakterien, selbst Kokken, treten nicht auf, und die Fäulnissflecke stellen sich nicht ein. Diese Blut-Granulationen sind sowohl direct als Bakterien aufgefasst, als auch als Bakterien durch Anamorphose des Protoplasma erklärt worden.

Enthielt das Blut Bakterien, wie bei vielen Infectionskrankheiten, so kann man dieselben in diesen Röhren als Reinkulturen erhalten.

7. Die Infections-Methode.

Bei dem höchsten, in der Einleitung als streng obligater Parasitismus bezeichneten Grade der Anpassung an die parasitische Lebensweise scheinen a priori nur die Gewebe des thierischen oder pflanzlichen Organismus den Parasiten die nöthigen Existenzbedingungen zu bieten und in manchen extremen Fällen scheint nur eine ganz bestimmte Art, oder selbst nur eine bestimmte Varietät den Parasiten als Wirth dienen zu können. Derartige Beobachtungen führten dazu, gesunde Thiere und Pflanzen der für die Parasiten empfänglichen Arten künstlich mit denselben zu inficiren, so dass dann der künstlich inficirte Organismus diese Parasiten unter reinen Bedingungen enthielt. Ich erinnere nur an die grundlegenden Versuche von Bassi über die Muscardine genannte Krankheit der Seidenraupen, an Küchenmeister's Experimente „über die Metamorphose der Finnen in Taenien", an die bekannten Experimente über Trichinose von Leuckart, Zenker, Virchow, an die Infectionen von Pflanzen mit Pilzen von de Bary, van Tieghem und von Brefeld, welcher letztere die Aufgabe der Infectionsmethode dahin präcisirte[1]), „erstens zu ermitteln wo und wie die Pilzkeime eindringen, dann zweitens die Entwicklung des Pilzes und das Fortschreiten der typischen Erkrankung der Wirthe von den eingedrungenen Pilzkeimen lückenlos herzuleiten."

---

[1]) Die künstliche Kultur parasitischer Pilze. Botanische Untersuchungen über Hefenpilze, Bd. V, 1883, S. 1.

Die sowohl durch klinische Beobachtungen, durch Thatsachen der Epidemiologie als vielfache Experimente festgestellte Uebertragbarkeit vieler Infectionskrankheiten führte dann, nachdem man manche dieser Krankheiten in Beziehungen zu Bakterien zu bringen gelernt hatte, dazu, die Infectionsmethode auch auf die Bakterien anzuwenden. Wir müssen streng genommen hierbei zwei Dinge auseinanderhalten. Einmal die Uebertragung anderweitig gewonnener Reinkulturen auf Thiere zum Nachweise der malignen Eigenschaften dieser Bakterien, und zweitens die Uebertragungen von Thier zu Thier ohne anderweitig vorausgegangene Reinkulturen. Es wurden früher meist, aber oft selbst jetzt noch, zu solchen Infectionen beliebige Thierspecies verwendet, welche gerade im Laboratorium zur Hand waren. Da ermittelte Koch[1]), dass bei Uebertragung von Faulflüssigkeiten auf Feld- und Hausmäuse nur die letzteren an einer bestimmten, durch feine Bacillen bedingten Septikämie zu Grunde gingen, und dass nach einigen Uebertragungen von Maus zu Maus das Blut dieser letzteren eine tadellose Reinkultur dieser Bakterienart darstellte. Dasselbe ermittelte er für eine andere Bakterienart durch Uebertragung von anderen Faulflüssigkeiten auf Kaninchen; auch bei diesen waren nach wenigen Uebertragungen von Thier zu Thier alle übrigen, ursprünglich in der Flüssigkeit reichlich vorhandenen Bakterien eliminirt und das Blut bot eine Reinkultur einer einzigen Bakterienart. Milzbrandbacillen tödten Mäuse so absolut sicher, dass man durch Uebertragung von Bakteriengemengen, welche Milzbrandbacillen enthalten, auf Mäuse nach wenigen Uebertragungen diese Bakterien rein erhalten kann. Ferner gelang es Carter und Koch Affen mit Recurrensblut zu inficiren, derart, dass das Blut dieser Thiere Reinkulturen der Recurrens-Spirochäten repräsentirte.

Aus derartigen Ermittelungen leitete Koch das wichtige Postulat her, zu Infectionsversuchen zunächst solche Thierspecies zu verwenden, welche nachweislich empfäng-

[1]) Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten 1878. Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, Bd. I, 1881, S. 1.

lich für die betreffende Krankheit sind, also Thiere derselben Art, und bei nicht Ausführbarkeit dieses Postulats zuerst Species zu wählen, welche der Thierart nahe stehen, bei der die Krankheit spontan auftritt. Die Technicismen folgen bei den Uebertragungsversuchen.

Diese Infectionsmethode als Methode der Reinkultur, bei der das Blut oder überhaupt der absichtlich inficirte Organismus eine Reinkultur der infectiösen Mikroorganismen darstellt, ist ins Auge zu fassen bei allen den Bakterien, welche den höchsten Grad der parasitischen Adaption zeigen, und bei allen den Infectionskrankheiten, bei denen Mikroorganismen bis jetzt noch nicht nachgewiesen sind, welche aber klinisch und epidemiologisch rein contagiös auftreten. Bei einzelnen dieser Krankheiten, bei vielen acuten Exanthemen, scheinen aber selbst derartige Uebertragungen ganz aussichtslos, weil diese Krankheiten möglicherweise ganz ausschliesslich den Menschen befallen, weil bei denselben die supponirten Mikroorganismen nur noch im menschlichen Körper die Existenzbedingungen finden. In solchen Fällen ist natürlich die Lösung aller in der Einleitung gestellten Fragen unmöglich, und es würde unbillig sein von der bakteriologischen Forschung hier die Lösung von Aufgaben zu verlangen, welche der Natur der Sache nach unlösbar sind.

In diesen Fällen müssen aber die lösbaren Theile der Aufgabe um so gewissenhafter ermittelt, die klinischen und epidemiologischen Beobachtungen um so kritischer gesichtet werden.

Aber der Bakteriologe darf erst verzichten auf die Lösung aller Aufgaben, wenn wirklich alle Möglichkeiten erschöpft sind. Eine Verbesserung der Methoden gestattet bisweilen scheinbar unmögliche Aufgaben noch lückenlos zu lösen, wie die glänzendste Leistung auf diesem Gebiete, Koch's Ermittelung der Aetiologie der Tuberkulose, lehrt, bei welcher das Experiment Reinkulturen ausserhalb des thierischen Organismus herzustellen gestattete trotz des scheinbar höchsten Grades parasitischer Adaption.

8. Die Kulturen auf durchsichtigem, festem Nährboden nach Koch.

Bis zur Mittheilung dieser Methode[1]) waren an Thatsachen ermittelt, welche zur Herstellung von Reinkulturen in bestimmten Fällen sich bewährt hatten:

1. Die Vortheile des festen, undurchsichtigen Nährbodens für die isolirte Kultur characteristischer Bakterien durch Schröter.
2. Die Möglichkeit des isolirten Wachsens von reinen Bakteriencolonien im Blute und die Möglichkeit der Differentialdiagnose solcher Colonien mit schwachen Vergrösserungen durch Salomonsen.
3. Die Vortheile durchsichtiger Medien für viele Fälle durch Pasteur, Cohn, Brefeld.
4. Das Princip des Ausganges von einem Keime durch Brefeld, Pasteur, Lister, Nägeli, Fitz.
5. Bei Anwendung dieses Princips die Nothwendigkeit der örtlichen Trennung, um jedem solchen einzelnen Keime die Möglichkeit zu geben, isolirt und rein sich zu vermehren.
6. Die Einführung der Gelatine durch Klebs und Brefeld, um die Verdunstung von Nährflüssigkeiten aufzuheben.

Diese Vortheile waren bis zu Koch immer nur isolirt zur Anwendung gekommen. Das verbindende Glied, welches gestattet, die meisten dieser Vortheile derart zu vereinigen, dass durch diese Verbindung die universellste und zugleich einfachste aller Methoden resultirte, fand aber erst Koch.

Auf festem Nährboden wachsen durch absichtliche oder Luftinfection hinaufgelangte Keime, wie früher schon geschildert, zunächst isolirt zu einer Colonie aus. Ist dieser feste Nährboden undurch-

[1]) Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, Bd. I, 1881, S. 1.

sichtig, so gelingt eine genügende Beobachtung nur bei besonders characteristisch wachsenden Mikroorganismen, wie es z. B. die Pigmentbakterien sind. Ist aber der Nährboden nicht nur fest, sondern gleichzeitig durchsichtig, so kann man mit Hülfe schwacher Vergrösserungen auch Colonien unterscheiden durch Eigenthümlichkeiten des Wachsthums, welche für das blosse Auge oder Loupenvergrösserung nicht mehr deutlich wahrnehmbar sind. Koch vereinigte zunächst die Vortheile des festen Nährbodens zur Trennung differenter Keime mit den Vortheilen, welche der durchsichtige Nährboden zur directen mikroskopischen Beobachtung bietet. Diese gleichzeitige Betonung der Festigkeit und Durchsichtigkeit unterscheidet Koch's Methode von allen anderen Methoden.

Koch schlug zur Erreichung dieses Zieles zwei ganz verschiedene Wege ein, indem er einmal feste durchsichtige Nährmedien wählte, welche ohne jeden Zusatz diesem Postulat gerecht wurden, und zweitens, indem er gewöhnliche klare Nährlösungen durch gelatinirende Zusätze zum Erstarren brachte.

Diese letzteren, welche zur Auffindung des Princips der Festigkeit und Durchsichtigkeit führten, und zeitlich dem anderen Wege vorangingen, gewann Koch dadurch, dass er zu den früher bekannten Normal-Nährlösungen und zu bewährten Decocten und Infusen so viel Gelatine zusetzte, dass diese Lösungen bei Zimmertemperatur zu einem durchsichtigen festen Nährboden erstarrten. Impfte Koch nun in eine solche „Nährgelatine", so lange sie noch flüssig war, von einer bakterienhaltigen Flüssigkeit eine Spur, so wurden beim Erstarren die einzelnen Keime jeder für sich von einer Gelatineschicht umhüllt. Waren nicht zu viele Keime hineingeimpft worden, so blieben sie in Folge des Festwerdens der Gelatine genügend getrennt, so dass jeder Keim am Orte der Fixirung isolirt zu einer Colonie heranwachsen konnte. Liess man die gelatinirte Lösung auf einer durchsichtigen Glasplatte erstarren, so konnte man diese Entwicklung der Colonien aus den einzelnen Keimen mit dem Mikroskope schon zu einer Zeit direct beobachten, in der die Loupe oder das blosse Auge noch keinerlei Entwicklung erkennen liess.

Die gelatinirenden Zusätze dienten bei Koch nicht, wie bei Klebs und Brefeld, zur Verhütung der Verdunstung; die bessere Nährfähigkeit war nicht, wie Brefeld betonte, eine erwünschte, sondern oft geradezu eine unerwünschte, mindestens eine höchst gleichgültige Nebenwirkung und die gleichfalls von Brefeld hervorgehobene Möglichkeit der Umkehrung gelatinirter Nährtropfen zur Vermeidung der Luftinfection wurde ganz nebensächlich, weil auf dem festen Nährboden auch die aus der Luft stammenden Keime sich streng localisirt entwickelten, so dass sie durch den Ort der Entwicklung leicht von den absichtlich hineingebrachten Keimen auseinanderzuhalten waren. Hierzu kommt noch, dass sowohl Klebs als Brefeld, um gelatinirende Zusätze in ihrem Sinne anzuwenden, schon vorher, der eine durch fractionirte Kultur, der andere durch Verdünnung, Reinkulturen haben mussten. Es findet sich weder bei Klebs noch bei Brefeld die geringste Andeutung eines Versuches oder nur einer Idee, das Gelatiniren der Lösungen zur Trennung von differenten Keimen, zur Herstellung von Reinkulturen zu benutzen, wie es Koch auf's schärfste postulirte.[1]) Auch Schoenauer und Miquel haben gegen 1876 bis 1879 gleichfalls Gelatine zur Bakterienkultur verwendet. Da aber Miquel selbst 1885[2]) noch nicht den Unterschied zwischen Verwendung von Gelatine als einfaches Nährsubstrat und zwischen dem Gelatiniren als Mittel zur Trennung und Isolirung erkannt hat, kann von einer Priorität absolut keine Rede sein. Thatsächlich hat Niemand vor Koch mit Bewusstsein und Erkenntniss der principiellen Bedeutung dieses Punktes gelatinirende Zusätze benutzt, um durch das Erstarren der vorher flüssig gemachten Gelatine die einzelnen Keime und Arten zu kennen.

In einer aus lauter gleichen Organismen zusammengesetzten,

---

1) Wenn Zopf in seinem Werke über die Spaltpilze Koch's Methode noch immer nebenbei unter Brefeld's Methode der Gelatinekultur erwähnt, so nimmt er keine Rücksicht auf die eignen Angaben beider Forscher, da es kaum etwas Verschiedeneres geben kann als diese beiden Methoden, abgesehen davon, dass die unabhängigen Angaben von Klebs sich mit denen von Brefeld im Wesentlichen decken, also immerhin mit zu erwähnen gewesen wären.

2) Annuaire de l'observatoire de Montsouris pour l'an 1885.

zuerst durch das Mikroskop, später auch durch das blosse Auge als characteristisch wachsend erkennbaren Colonie summiren sich die Eigenthümlichkeiten des einzelnen Organismus. Der Gesammthabitus einer Colonie kann dadurch höchst werthvoll werden zur Differentialdiagnose von Organismen, die sich sonst der Form nach sehr ähnlich sind. Das Studium der morphologischen Differenzen, welche sich in den reinen Colonien documentiren, ist es besonders, welches diese bakteriologische Methode für die Hygiene brauchbar gestaltet hat, da die characteristischen Differenzen der verschiedenen Arten auf dem festen durchsichtigen Nährboden viel augenfälliger sind als in durchsichtigen (Bouillon) oder trüben (Milch) Lösungen.

Der Nachweis, dass eine mit blossem Auge und bei schwächeren Vergrösserungen (bis zu etwa 80 bis 120fach) sich einheitlich repräsentirende und characteristisch wachsende Colonie aus einem einzigen Keime hervorgehen kann, war vor Mittheilung der Methode sicher gestellt. Bei Kultur-Hefen waren die Formen der Colonien nicht immer genügend unterschieden, besonders bei solchen Arten oder Rassen, deren Einzelzellen nicht sehr different waren, so dass Hansen für diese Organismen jedesmal die Entwicklung der Colonien aus einem Keime am gelatinirten hängenden Tropfen in der feuchtenKammer direct verfolgt, wenn er solche Colonien als Ausgang für absolut reine Massenkulturen in der Gährungs-Technik verwenden will. Bei einiger Uebung lernt man ziemlich sicher erkennen ob eine Colonie einen einheitlichen Ursprung hat, oder ob sie aus einer Vereinigung mehrerer Colonien hervorgegangen ist. Eine absolut sichere Trennung in die einzelnen Keime ist auch durch die Verwendung der Gelatine nicht erreichbar, wie schon früher bei der Verdünnungsmethode dargelegt wurde. Dieser Fehler ist praktisch wenig bedenklich, weil er durch einige successive Uebertragungen eliminirt werden kann. Die Art wie ein Keim zu einer Colonie auswächst und eine characteristische Colonie bilden kann, ist absolut entscheidend nur zu lösen durch Beobachtungen in der feuchten Kammer, praktisch aber durch Vergleich vieler einzelner Colonien kaum weniger sicher zu ermitteln durch neue Uebertragungen, welche mit mikroskopisch geprüften Colonien ausgeführt werden.

A. Durchsichtige, feste Substrate durch Zusatz gelatinirender Substanzen; „Nährgelatine“.

Herstellung der Nährgelatine. Man setzt zu einer der bewährten Nährlösungen, Decocte oder Infuse reinste, kleingeschnittene Gelatine, und zwar für die meisten Fälle circa 10 % Gelatine. Diese Gelatine lässt man eine halbe bis einige Stunden quellen, löst sie dann unter mässigem Erwärmen vollständig auf. Da die Gelatine sauer reagirt, die meisten Bakterien aber neutrale oder schwach alkalische Reaction erfordern, wird die warme Gelatinelösung mit Natriumcarbonat neutralisirt, oder für die meisten Fälle noch besser überneutralisirt bis zur ganz schwachen Bläuung von rothem Lackmuspapier.

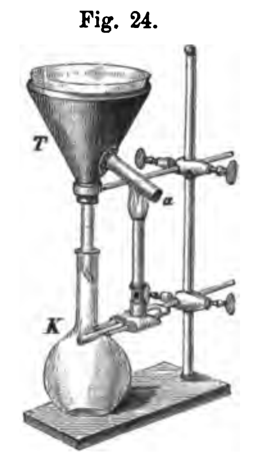
Die neutralisirte Gelatinelösung wird dann zur völligen Ausscheidung der Neutralisationspräcipitate und aller durch Hitze coagulirbaren Substanzen ungefähr eine Stunde auf dem Wasserbade gekocht und darauf heiss durch ein angefeuchtetes Faltenfilter filtrirt. Das Filtrat muss nach erneutem Aufkochen in der Kälte klar ohne jede Trübung erstarren; eine vorübergehende Trübung beim Aufkochen durch Phosphate, welche in der Kälte wieder schwindet, hat nichts zu sagen.

Es giebt selbstverständlich keine Nährgelatine, welche allen Bakterien gleich gute Existenzbedingungen bietet. Aber es bleibt wünschenswerth gelatinirte Lösungen zu besitzen, welche möglichst universell verwerthbar sind, so dass sie möglichst vielen Bakterienarten wenigstens so günstige Bedingungen bieten, dass sich die Keime bis zu erkennbaren und trennbaren Colonien entwickeln können. Dies leisten die S. 113 angegebenen Lösungen, vor Allen die von Löffler angegebene Fleischbrühe. Man fügt zu dem ausgepressten Fleischsaft 10 gr trocknes Pepton, 5 gr Kochsalz und 100 gr reinste Gelatine, löst die Gelatine, neutralisirt die warme Lösung, kocht 1 bis 2 Stunden lang auf dem Wasserbade und filtrirt heiss.

Man bedient sich am bequemsten hierzu eines Heisswassertrichters, Fig. 24 (T), bei dem die zwischen dem Glastrichter und dem äusseren Kupfermantel befindliche Wasserschicht durch eine Flamme warm gehalten wird, welche unter dem seitlichen, mit dem

Wassermantel in Verbindung stehenden Ansatze a angebracht wird. Weniger bequem gelingt es ohne diesen Trichter, wenn man successive kleine, heisse Portionen filtrirt, wobei man vortheilhaft durch eine kleine Flamme den Glastrichter von Zeit zu Zeit vorsichtig anwärmt.

Fig. 24.



Die neutrale, klare Nährgelatine wird dann mit Hülfe eines sterilisirten Trichters oder einer Pipette in sterilisirte Reagirgläser gefüllt zu ungefähr einem Drittel des Inhalts der Gläser, etwa 10 ccm entsprechend, und der sterilisirte Wattepfropf darauf wieder aufgesetzt. Diese in Reagirgläsern befindliche Nährgelatine wird sterilisirt durch discontinuirliches Kochen. Man kann zu diesem Zwecke die in den Reagirgläsern erstarrte Gelatine direct in der Flamme vorsichtig lösen und dann in der Flamme aufkochen oder dieselbe durch Einsetzen der Reagirgläser in warmes Wasser erst lösen, dann nach Abtrocknen der Gläser in der Flamme kurz aufkochen oder auch einige Tage hintereinander je 10 Minuten im Wasserbade kochen. Dieses Aufkochen wiederholt man an 4 bis 5 Tagen je einmal. Die Ansicht von Fol, dass man in zwei Stunden im Papin'schen Topfe das Sterilisiren eben so sicher erreichen kann, vermag ich nicht zu theilen und die Experimente, welche Miquel 1885 gegen die Möglichkeit des sicheren Sterilisirens der Nährgelatinen durch 100° anführt, beweisen nichts, weil sie von einer unrichtigen Fragestellung ausgehen. Hat die Gelatine längere Zeit gestanden, so dass sie anfängt durch Verdunsten abzunehmen, so muss sie vor dem Gebrauche noch einmal verflüssigt und aufgekocht werden.

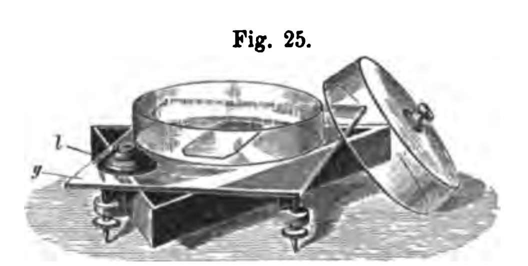
Diese fertige Nährgelatine findet Verwendung zu Objectträgerkulturen, zu Plattenkulturen und zu Reagirglaskulturen.

a. **Objectträgerkulturen**, Taf. I, Fig. 1 und 3.

Die im Reagirglase befindliche Gelatine wird durch Aufkochen oder Erwärmen bei ca. 30° im Wasserbade verflüssigt und der

Wattepfropf, soweit er vorsteht, vor dem Oeffnen der Vorsicht halber zur Vernichtung etwa darauf angesammelter Pilz- oder Bakterienkeime in der Flamme verkohlt. Die Objectträger werden mit Mineralsäuren, Wasser, Alkohol, Aether gründlich gereinigt und durch zweistündiges Verweilen bei 150 bis 160° im Trockenschranke sterilisirt. Man bringt zu diesem Zwecke eine Anzahl reiner Objectträger in ein kleines Becherglas, über welches man ein grösseres stülpt, so dass die Abkühlung gegen Staub geschützt vor sich geht. Zum Auftropfen der Gelatine legt man eine Anzahl Objectträger, durch übergedeckte Glasglocke gegen Staub geschützt, möglichst horizontal auf einen Tisch oder eine Glasplatte. Am bequemsten bedient man sich hierzu des Apparates, Fig. 25. Derselbe besteht aus einem mit Stellschrauben versehenen Dreieck von Holz, auf welches eine geschliffene Glasplatte g aufgelegt wird. Diese Glasplatte wird mit Hülfe einer Libelle l und der Stellschrauben horizontal eingestellt. Unter der Glasplatte ist Raum zum Anbringen einer Schale mit kaltem Wasser oder Eis, um die Glasplatte stark abzukühlen, wodurch das Festwerden der Gelatine beschleunigt wird.

Fig. 25.



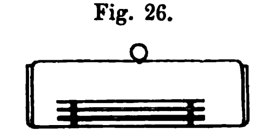
Mit einer sterilisirten Pipette nimmt man darauf von der verflüssigten Gelatine und trägt dieselbe durch Auslaufenlassen aus der Pipette in Form eines langen, flachen, einige Millimeter dicken, nirgends den Rand des Objectträgers berührenden Streifens, Taf. I, Fig. 1, auf. War es nicht möglich die Objectträger ganz horizontal einzustellen, so kann man sich dadurch helfen, dass man die Gelatine durch Eintauchen der Reagirgläser in kühles Wasser oder Unterhalten unter eine Wasserleitung so weit abkühlt, dass sie nicht mehr ganz dünnflüssig ist, sondern mehr zähflüssige Beschaffenheit zeigt.

Sind diese Gelatinstreifen so weit erstarrt, dass die Gelatine noch nicht vollständig fest, sondern sehr zähflüssig ist, so **impft** man dieselbe, indem man mit einer sterilisirten Platinnadel eine

Spur der zu impfenden Substanz oder Flüssigkeit entnimmt und dieselbe durch leichtes, nicht bis auf den Objectträger reichendes Ritzen **strichförmig** einträgt durch 3 bis 5 Impfstriche, Taf. I, Fig. 1. Beim vollständigen Erstarren der Gelatine werden dann die Keime fixirt und, wenn nicht zu viele in einem Striche sich befanden, auch von anderen Keimen soweit getrennt, dass jeder isolirt zu einer Colonie auswachsen kann.

Die geimpften Objectträger werden in eine feuchte Glocke, Fig. 16, gebracht. Auf Bänke von Glas oder Zinkblech bringt man 2 bis 4 solcher Objectträger der Quere nach, deckt zum Schutze eine zweite Glasbank darüber, und kann auf diese Weise mehrere Etagen über einander anbringen, Fig. 26. Diese Glasbänke werden sorgfältig gereinigt und vor dem Gebrauche durch Hitze sterilisirt. Derartige Bänke stellt man sich her indem man etwa 4 cm breite und 16 cm lange Streifen von Zinkblech an jedem Rande 1 bis 1,5 cm weit umbiegt, oder indem man auf 4 cm breite ca. 14 cm lange Glasstreifen am Rande schmale Glasleisten mit Canadabalsam aufkittet. Auf diese Bänke legt man einen entsprechend grossen Streifen trocknen Fliesspapiers, auf den die Objectträger kommen. Ein absoluter Schutz gegen Luftinfection wird nicht angestrebt. Die Keime aus der Luft können sich nur auf der Oberfläche der Gelatine ansiedeln und sind dadurch, selbst wenn sie zufällig auf einem Impfstriche oder in unmittelbarer Nähe zu einer Colonie auswachsen, erkennbar. In Taf. I, Fig. 3, ist bei ca. 15facher Vergrösserung, bei 2 ein solcher Luftkeim dargestellt, dessen Colonie an einer Stelle auch über den Impfstrich hinübergewachsen ist. Das Wachsthum der Colonien im Impfstriche controlirt man mit schwachen Trockensystemen bei 80 bis 150facher Vergrösserung. Sind in einem Impfstriche verschiedenartige Colonien gewachsen, so überträgt man bei der zweiten Impfung durch Entnahme der Probe unter Zuhülfenahme eines Präparirmikroskops, bei 15 bis 20facher Vergrösserung, von jeder solchen differenten Colonie auf besondere Objectträger, so dass man nach einigen Uebertragungen auf jedem Objectträger nur eine einzige Form hat.

Fig. 26.



Für alle Gelatinekulturen ist noch folgendes zu merken. In Bezug auf ihr Verhalten zu Gelatine kann man alle Bakterien praktisch eintheilen, in solche, welche die Gelatine fest lassen, und in solche, welche die Gelatine verflüssigen. Die ersteren wachsen im Innern der Gelatine in kugliger (Taf. I, Fig. 1 an einigen Stellen, und Fig. 3) oder ellipsoider, oder Scheibenform u. s. w., während sich an der Oberfläche ein characteristisches Oberflächenwachsthum bald in Form scharf umschriebener Kreise (Taf. I, Fig. 1), concentrischer Ringe, bald in blatt- oder traubenähnlicher Anordnung u. s. w. ausbildet. Manche Arten überziehen die Gelatine hauch- oder schleierartig; die Form der einzelnen Colonien ist bald regelmässig, bald unregelmässig. Von solchen Bakterien überträgt man sowohl von den isolirten Colonien im Innern, als vom Rande der oberflächlich wachsenden Colonien. Die verflüssigenden Bakterien thun dies gleichfalls in verschiedener Weise (Taf. I, Fig. 4); bald rapide, bald nur langsam. Die Concentration der Gelatine ist auf die Form und Schnelligkeit der Verflüssigung von Einfluss, so dass man zu Vergleichen, zur Differentialdiagnose gleiche Concentration der Nährgelatine und gleiche Temperatur wählen muss. Manche Bakterien überziehen die Gelatine erst schleierartig, alteriren sie aber bei dem Wachsthum derart, dass die Verflüssigung sich fast mit einem Schlage einstellt; andere wieder alteriren ihre nächste Umgebung, bei einer zur sicheren Trennung ungenügenden Concentration, derart, dass sie spontan über und in der Gelatine sich zu bewegen scheinen. Bei einzelnen Arten schreitet die Verflüssigung fast parallel mit dem Wachsthum, bei anderen reicht die Verflüssigung erheblich weiter als das sichtbare Wachsthum, so dass man an lösliche, peptonisirende Enzyme denken muss, welche von den Bakterien abgeschieden werden. Manche Bakterien erweichen die Gelatine mehr breiartig bei 10 %, während sie bei 5 % schon deutlich, wenn auch weniger intensiv verflüssigen; diese die Gelatine erweichenden Bakterien nehmen für die praktische Anwendung der Gelatine eine Art Mittelstellung ein, zwischen den verflüssigenden und den die Gelatine fest lassenden Arten. Unter allen Gattungen der Bakterien giebt es verflüssigende und nicht ver-

flüssigende Arten, ohne dass aber die Art des Wachsthums scharfe Gattungsmerkmale bietet.

Da mit Fortschreiten der Verflüssigung die Vortheile des festen Nährbodens verloren gehen, hat man diese Formen möglichst schnell von den anderen zu trennen, indem man möglichst wenig Keime verimpft, so dass die Berührung der verflüssigenden mit anderen erst eintreten kann, wenn die Colonien schon genügend zur Uebertragung entwickelt sind. Man entnimmt immer vom Rande, wo die Verflüssigung eben übergreift auf die noch feste Gelatine, weil im Innern der Verflüssigung schon eine Vermischung mit anderen Formen vor sich gegangen sein kann. Zum Uebertragen wählt man Colonien, welche bei mikroskopischer Controle durch Trockensysteme einen durchaus einheitlichen Eindruck machen und bei denen die characteristischen Differenzen möglichst scharf ausgesprochen sind. Ausserdem ist es zur Controle erforderlich, von den übertragenen Colonien mikroskopische Deckglas-Trockenpräparate herzustellen. Unter directer Controle eines schwachen Trockensystems, oder eines besonderen Präparirmikroskops entnimmt man mit einer sterilisirten Platinnadel die zu übertragende Probe. Es ist einige Uebung nöthig zur Erlangung der manuellen Geschicklichkeit, um mit der Platinnadel nicht vorher andere Parthien der Oberfläche, sondern nur genau die zu verimpfende Stelle zu treffen.

b. Plattenkulturen[1]**), Taf. I, Fig. 4.**

Erforderlich sind Glasplatten von der Stärke der Objectträger und einer Breite, dass alle Punkte ihrer Oberfläche nach einander mikroskopisch zugänglich gemacht werden können; das Verhältniss der Breite zur Länge beträgt je nach der Breite des Objecttisches des Mikroskopes etwa 8 : 14 oder 10 : 12 cm. Diese Platten werden gründlich gereinigt (Mineralsäuren, Wasser, Alkohol, Aether),

---

[1]) Zuerst demonstrirt bei Gelegenheit der Hygieneausstellung und in einem Vortrage von Koch auf dem XI. deutschen Aerztetage 1883 zu Berlin. In letzter Zeit sind Anweisungen zu diesen Kulturen erschienen von Biedert als Separat-Abdruck aus der deutschen Medicinal-Zeitung 1884 und von Johne Ueber die Koch'schen Reinkulturen 1885, 2. Auflage.

dann in ein entsprechend grosses, mit Deckel verschlossenes Blechgefäss gesetzt und 2 Stunden durch 150 bis 160° sterilisirt. Nach dem Abkühlen wird eine solche Glasplatte auf die Spiegelscheibe des Apparates, Fig. 25, gelegt und durch Ueberdecken einer reinen Glasglocke gegen Staub geschützt. Die Gelatine wird darauf im Wasserbade bei 30° oder durch Aufkochen verflüssigt und wieder soweit abgekühlt, dass sie noch eben gut flüssig ist. Der festsitzende Wattepfropf des Reagirglases wird durch Drehen mit einer vorher geglühten Pincette gelockert, so dass das Abnehmen leicht und schnell vorgenommen werden kann; vortheilhaft ist es die oberen Parthieen des Wattepfropfs zur grösseren Sicherheit durch Erhitzen in der Flamme von etwaigen daraufgefallenen Keimen zu befreien. Ist das Reagirglas mit der Gelatine derart vorbereitet, so wird es mit Daumen und Zeigefinger der linken Hand gefasst und möglichst schräg gehalten, aber ohne dass die Gelatine den Wattepfropf berührt. Darauf taucht man den vorher geglühten Platindraht oder die Platinöse in das zu übertragende Material, fasst den Glasstab, in welchem der Platindraht eingeschmolzen ist, schreibfederartig mit der rechten Hand, nimmt mit 4. und 5. Finger der rechten Hand den lockeren Wattepfropf ab und führt den geraden Platindraht oder die Platinöse in die flüssige Gelatine ein, bewegt ihn darin hin und her, streicht ihn an der Wand ab, zieht den Glasstab heraus, setzt schnell den Wattepfropf wieder auf. Darauf wird durch Drehen, Neigen und leichtes Schütteln das eingebrachte Material möglichst gleichmässig in der Gelatine vertheilt. Dann giesst man die flüssige Nährgelatine mit den in ihr vertheilten Keimen auf die Mitte der Glasplatte und vertheilt die Gelatine auf derselben mit einem durch Glühen sterilisirten und wieder abgekühlten Glasstabe oder Platindraht. Diese Platte wird in einer feuchten Glocke auf eine Glasbank gelegt und darüber eine zweite Glasbank gestellt, so, dass auch hier mehrere Etagen von Glasplatten in einer Glocke Platz finden können.

Während bei den Objectträgerkulturen nicht die ganze Gelatine sondern nur die Impfstriche und ihre nächste Umgebung ausgenutzt wird, und während ausserdem eine relativ grosse Menge von Keimen auf relativ wenig Impfstriche zur Vertheilung kommt, wird bei den

Plattenkulturen eine relativ kleine Menge Keime auf eine verhältnissmässig viel grössere Menge Gelatine vertheilt. Dementsprechend ist die Vertheilung der Keime in der noch flüssigen Gelatine eine weit bessere, sodass die einzelnen Keime, durch die erstarrende Gelatine fixirt, weiter von anderen Keimen getrennt, isolirt zur Entwicklung einer Colonie kommen können. In Flüssigkeiten verbreiten sich einerseits die Bakterien selbst durch die ganze Lösung, aber auch ihre Stoffwechselproducte werden schnell und gleichmässig durch die ganze Flüssigkeit verbreitet. Die Bakterien wachsen deshalb im Allgemeinen in Lösungen schneller, aber die Flüssigkeit wird auch deshalb schneller ausgenützt und erschöpft, weil die Stoffwechselproducte bei einer gewissen Menge dem weiteren Wachsthum ein Hinderniss setzen. In der Gelatine dagegen wird nicht das ganze Nährmaterial auf einmal zugänglich, sondern nur das der nächsten Umgebung, soweit das wirkliche Wachsthum oder ausgeschiedene Enzyme reichen, der andere Theil der Gelatine bleibt unverändert in Reserve und wird nur mit dem Wachsthum in Angriff genommen. Die löslichen Stoffwechselproducte dagegen werden durch Diffusion langsam in der ganzen Gelatine vertheilt und häufen sich nur langsam in der nächsten Umgebung an. Eine Anhäufung von Stoffwechselproducten, welche das weitere Wachsthum hindern, findet in Gelatine langsam statt, so dass die einzelnen Colonien hinreichend Zeit haben, ihr characteristisches Wachsthum zu erreichen; diese Anhäufung ist aber in der nächsten Umgebung von Impfstrichen bei der Objectträgercultur mit ihren vielen Keimen schneller zu erwarten, als auf Platten auf denen die einzelnen Keime weiter von einander getrennt sind. Die Plattenkultur bietet deshalb zunächst die mechanischen Eigenthümlichkeiten des festen Nährbodens, der allerdings immerhin noch 90 % Wasser enthält, in einer verbesserten Form. Welche enorme Anzahl von Keimen auf diese Weise sicher von einanden auf einer einzigen Gelatinplatte getrennt werden können, zeigt die Fig. 4 der Taf. I, bei welcher jede Colonie ein einziger isolirter Keim entspricht und in der erst wenige Colonien sich berührt haben.

Die **Plattenkultur** mit gelatinirenden Lösungen fügt zu den schon früher erwähnten Vortheilen der **durchsichtigen und**

festen Nährmedien noch die weiteren **Vorzüge der Verdünnungsmethode,** sie **ist eine vereinfachte Verdünnungsmethode.** Gegenüber der Verdünnung in gewöhnlichen Lösungen hat sie den enormen praktischen Vortheil, dass die ganzen Manipulationen schnell hintereinander ausgeführt werden und sich nicht so oft wiederholen als Keime vorhanden sind resp. als Einzelversuche nöthig wären. Bei der grossen Zahl von Einzelkolonien, welche auf einer Platte ungestört zur Entwickelung kommen können, bietet sie den grossen Vorzug gegen alle anderen Methoden, dass man direct sehen und zählen kann und nicht die Fehler einer Rechnung mit vielen unbekannten Grössen in den Kauf nimmt. Wie bei jeder Verdünnungsmethode ist auch bei der Plattenkultur das Resultat um so zuverlässiger und gleichmässiger, je geringer verhältnissmässig die Zahl der Keime ist. Die Abweichungen werden um so grösser und ungleichmässiger, je ungünstiger das Verhältniss zwischen Menge der Keime und Menge der Gelatine ist. Selbst aber, wenn eine solche Menge Keime zur Entwicklung bommt, wie auf Taf. I, Fig. 4, ist die Platte immer noch brauchbar zur Orientirung und zur leichten Isolirung mehrerer Arten; dies ist aber in so kurzer Zeit und mit so einfachen Mitteln durch keine andere Methode zu erreichen, so dass sie für diese Fälle auch von Gegnern, wie Fol, verwendet wird, und Miquel findet wenigstens, dass, wenn schon die festen Nährböden „facilement à la séparation rapide des espèces“ brauchbar sind, die Plattenkultur diese Vortheile in Form eines „procédé expéditif et non dépourvu d'élégance“ bietet.

Alle Colonien, welche Differenzen zeigen, werden nun erst mikroskopisch geprüft und dann von denselben durch eine zweite Uebertragung Reinkulturen hergestellt. Zu diesem Zweck wird ganz in derselben Weise unter Controle des Mikroskops oder des Präparirmikroskops eine Spur von einer reinen Colonie in neue Gelatine gebracht und von dieser eine neue Plattenkultur angelegt, in der dann aber bis auf etwaige Luftinfectionen nur dieser eine Organismus zur Entwicklung kommt. Man kann also bei der zweiten Uebertragung schon ganz sichere Reinkulturen haben. Luftinfectionen sind bei dem Oeffnen nicht ausgeschlossen, aber einmal sind sie nicht

annähernd so zu fürchten, wie die Infectionen durch unsicher sterilisirte Instrumente und Hände und dann müssen sich auch diese Keime isolirt entwickeln. Hat die Luftinfection beim Oeffnen und Impfen der Reagirgläser stattgefunden, so können sich diese Luftkeime natürlich ebenso in der Gelatine entwickeln, wie die absichtlich hineingebrachten; aber ihre spärliche Zahl wird im Verhältniss zu den übrigen Organismen einen Anhalt ihrer Herkunft geben und dann macht man nicht nur eine einzige, sondern mehrere Plattenkulturen von einem Material, von denen die eine immer die andere controliren hilft. Hat nach dem Erstarren eine Luftinfection stattgefunden, so ist diese durch ihre ganz oberflächliche Lage meist leicht zu erkennen, wie 2 in Fig. 3, Taf. 1.

In der Mehrzahl der Fälle genügt dieses Verfahren. Aber hin und wieder, bei Faulflüssigkeiten, Eiter, Fäces, stark verunreinigtem Wasser, ist die Zahl der mit einem Bakterientropfen, mit einer „Spur" übertragenen Keime so gross, dass keine genügende Isolirung der einzelnen Keime eintritt, sondern dass diese sich berühren vor Auftreten erkennbarer characteristischer Wachsthumsdifferenzen.

In diesen Fällen muss die Verdünnung noch weiter getrieben werden und dies kann man in zweierlei Weise erreichen. Einmal kann man das mit der Platinöse entnommene Material in sterilisirtes destillirtes Wasser bringen, durch Schütteln vertheilen und dann von dieser mehr oder weniger verdünnten Mischung einen Tropfen zum Inficiren der flüssigen Gelatine benutzen. Dieses Verfahren ist dann anzuwenden, wenn man die entwicklungsfähigen Keime oder genauer die zur Entwicklung gelangten Colonien zählen will. Man verdünnt dann eine bestimmte Einheit des ursprünglichen Materials, etwa 1 ccm mit der 10, 100, 1000 fachen Menge sterilisirtem destillirtem Wasser, und mischt von dieser Verdünnung nach gehörigem Schütteln 1 ccm mit der bei 30° verflüssigten Gelatine.

Ein zweites Verfahren lehnt sich an die fractionirten Kulturen an. Man impft erst ein Glas in der geschilderten Weise, das „Original". Nach gründlicher Vermischung überträgt man aus diesem Glase zur „ersten Verdünnung" in ganz derselben Weise einige, z. B. 5, kleine Tröpfchen. Man hält das Originalglas zwischen Daumen und

Zeigefinger, das noch zu inficirende zwischen Zeigefinger und Mittelfinger der linken Hand, nimmt erst den Pfropf von dem Original ab, legt ihn, mit Pincette gefasst, zur Seite oder giebt ihn zwischen vierten und fünften Finger der linken Hand, welche dann gleichzeitig zwei Gläser und einen Pfropf zu halten hat. Darauf nimmt man mit viertem und fünftem Finger der rechten Hand den Pfropf von dem zweiten Glase, taucht die Platinöse in das Originalglas und trägt diesen Tropfen in das zweite Glas ein. Durch Hin- und Herbewegen sorgt man dafür, dass sich beim Herausnehmen kein Gelatinetropfen in der Oese befindet. Man wiederholt dann mit derselben oder einer vorher zurecht gelegten zweiten Platinöse diese Uebertragung noch einmal und fährt so etwa fünfmal fort. Dann setzt man erst den mit der rechten Hand gehaltenen Pfropfen auf das frisch inficirte Glas, dann den in der linken Hand gehaltenen auf das Originalglas. Nun hat man das Original = O und die erste Verdünnung = I fertig. Darauf macht man eventuell noch eine zweite = II und selbst eine dritte, mit III bezeichnete, Verdünnung in ganz derselben Weise mit derselben Zahl Tropfen von der je vorausgegangenen Kultur. Jedes dieser Gläser liefert eine mit O, I bis III bezeichnete Plattenkultur, die man in derselben feuchten Glocke etagenweise unterbringt. Jede dieser Kulturen controlirt die andere. Dieses Verfahren ist besonders dann am Platze, wenn man eine bestimmte Art aus einem Gemische isoliren will.

Hat man so eine Anzahl differente Bakterien getrennt, so macht man von jeder derselben eine Plattenkultur für sich, welche dann bis auf eine etwaige Luftinfection eine Reinkultur eines einzigen der in dem ursprünglichen Gemische vorhandenen Arten enthält. Diese Uebertragungen der rein kultivirten Organismen wiederholt man nun öfters mit besonders charakteristisch gewachsenen, mikroskopisch geprüften Colonien, um auf diese Weise auch jede gelöste chemische Beimengung des ersten Substrates zu eliminiren.

c. **Reagirglaskulturen,** Taf. II, Fig. 5 und 6.

Bei längerer Dauer ist eine Luftinfection bei dem geringen Schutze der Objectträger- und Plattenkulturen kaum zu vermeiden,

die besonders dann unbequem wird, wenn durch dieselbe eine Verflüssigung der Gelatine herbeigeführt wird. Es wird deshalb nöthig, die Kulturen öfters auf neue Objectträger oder Platten umzuzüchten. Einerseits um ein zu häufiges, oft recht lästiges, zeitraubendes oder den Platz beschränkendes Umzüchten zu vermeiden, besonders aber um ein einmal reingewonnenes Material sicher zu conserviren, bedient man sich der Reagirglaskulturen, in denen ausserdem manche Wachsthumseigenthümlichkeiten sich besser markiren.

Das mit erstarrter, sicher sterilisirter Nährgelatine versehene Reagirglas bedarf keiner anderen Vorbereitung, als dass der Watte-pfropf durch Drehen mit geglühter Pincette zum schnellen Oeffnen gelockert wird. Dann wird mit einer ausgeglühten Platinnadel unter Controle des Mikroskops eine Spur der reinen Kultur genommen. Die linke Hand fasst darauf das Glas so, dass die Oeffnung nach unten sieht; dann wird mit dem vierten und fünften Finger der rechten Hand oder mit der Pincette der Wattepfropf abgenommen und mit dem Platindraht des zwischen rechtem Daumen und Zeigefinger gefassten Glasstabes ein oder mehrere Stiche in die Gelatine gemacht (Fig. 27). Zum Schlusse wird, noch während die Oeffnung nach unten gerichtet ist, der Wattepfropf wieder fest eingesetzt.

Fig. 27.

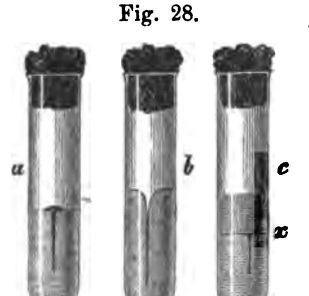


Das Schicksal einer solchen Stichkultur ist je nach den verimpften Bakterien ein sehr differentes. Als allgemeiner Anhalt mögen folgende Daten dienen. Bei den die Gelatine nicht verflüssigenden Bakterien (Taf. II, Fig. 5) bildet sich das characteristische Oberflächenwachsthum von der Einstichöffnung derart aus, dass bald flache oder stärker prominirende Köpfchen entstehen, welche in Verbindung mit dem Impfstiche der Kultur das Aussehen eines Nagels verleihen, „Nagelkulturen“ von Friedländer. Fig. 28a; statt eines solchen, mit dem Nagelkopf vergleichbaren köpfchenähnlichen Wachsthums, wachsen andere auf der Oberfläche in Form concentrischer Ringe, oder blatt- oder traubenförmiger Gebilde. Einzelne zeigen intensives Oberflächenwachsthum und mangelhaftes Wachsthum in dem Impfstiche, bei anderen verhält es sich gerade

umgekehrt. Die Kulturen erscheinen bald trocken, bald schleimig, andere sind glänzend, andere durchscheinend. Die Farben der Kulturen sind höchst differente; die Gelatine selbst verändert bald die Farbe, bald nicht; oft tritt ein besonderer Geruch auf. Alle diese kleinen morphologischen und biologischen Differenzen sind zu beachten, weil sie die Differentialdiagnose erleichtern.

Bei den die Gelatine verflüssigenden Bakterien geschieht dies zum Theil ganz allmählich, so dass die Gelatinekultur ein leicht trichterförmiges Ansehen gewinnt, Fig. 28 b, bei anderen schneller; es entstehen dabei breitere Trichter, oder die Verflüssigung schreitet mehr schichtenweise vor sich. Bald bilden sich Häutchen an der Oberfläche, bald nicht; oft sieht man an der Grenze zwischen verflüssigter und noch fester Gelatine, x der Fig. 28 c, die Kultur in Form von verschieden gestalteten Wolken vorwärts schreiten. Bisweilen scheint die Verflüssigung streng an das Fortschreiten der Vegetation gebunden, manchmal ihr vorauszueilen, als ob verflüssigende Stoffe von den Bakterien producirt würden, welche weiter wirken als das sichtbare Wachsthum reicht. Auch bei den verflüssigenden Bakterien können die Kulturen verschiedene Farben bilden und die Gelatine kann Farbenveränderungen erleiden; es können Gerüche auftreten. Auch diese Differenzen sind sämmtlich zu beachten.

Fig. 28.



Kehrer[1]) empfiehlt zur schnellen Differentialdiagnose 1 bis 1,5 % Agarlösungen mit einem einzigen Reagens in geringer, etwa 0,25 %, Menge (Traubenzucker oder Dextrin oder Chlornatrium etc.) zu versehen und die Reagirgläser mit dieser mageren Gallerte in gleicher Weise mit den verschiedenen zu bestimmenden Colonien zu impfen, weil auf diese Weise die Wirkung des einen Reagens reiner hervortritt.

Die **Grenzen der Anwendbarkeit der gewöhnlichen gelatinirenden Zusätze,** wie Hausenblase, Caraghen, Gelatine, liegen

[1]) Centralblatt f. d. med. Wissenschaften, 1885, No. 41.

bei ca. 25° C., weil in den brauchbaren Concentrationen bei dieser Temperatur vollständige Verflüssigung eintritt und damit die Vortheile des festen Nährbodens verloren gehen. Andere Nachtheile der Gelatine liegen darin, dass vielleicht nicht alle Bakterien in derselben wachsen; manche Bakterien wachsen wieder bei den verwendbaren Temperaturen so langsam, dass sie von anderen Arten überwuchert werden können ehe sie deutlich erkennbare und trennbare Colonien bilden; sind verflüssigende Arten auf einer Platte, sei es aus dem zu analysirenden Substrate, sei es als Lufteinsaat, so kann die ganze Gelatine in eine undefinirbare Flüssigkeit übergeführt werden, ehe man die Zahl und die Arten genügend zu erkennen vermag. Den Nachtheil einer nicht absoluten Verwerthbarkeit theilt die Nährgelatine mit jeder Nährlösung; auch die anaerobiotischen Bakterien bedürfen, ebenso gut wie in Flüssigkeiten, einer besonderen Berücksichtigung.

Diese Grenzen der Verwerthbarkeit der Gelatine muss man kennen und berücksichtigen, wenn man die Verdünnungsmethode mit gelatinirenden Lösungen sinngemäss anwenden will.

Zur Erzielung der Durchsichtigkeit und Festigkeit bei Körpertemperatur nimmt man statt Gelatine die von Gracilaria lichenoides und Gigartina speciosa gewonnene, Agar-Agar genannte, Pflanzengallerte, welche für die höheren Temperaturen alle Vortheile der Methode bietet, aber etwas sorgfältigeres Arbeiten erfordert.

Statt 5 bis 10 % Gelatine fügt man den Lösungen 1 bis höchstens 2 % kleingeschnittenes Agar-Agar bei, lässt dasselbe im Eisschrank 24 Stunden aufquellen und löst dasselbe durch Kochen möglichst vollständig auf; das Aufquellen kann bei langsamem Anwärmen auch unterbleiben. Die heisse Lösung wird mit Natriumcarbonat neutralisirt und dann zwei Stunden auf dem Wasserbade oder noch besser im Dampfstrome gekocht, zur Ausscheidung der durch Hitze gerinnbaren Substanzen und der Neutralisationspräcipitate. Die Filtration der heissen Agarlösungen geschieht indem man das Aufnahmegefäss mit dem Trichter in den Dampfsterilisirungs-

Cylinder (Fig. 2) setzt. Nach Rosenbach[1]) füllt man den Trichter mit Watte und lässt die Agarlösung die dicke Watteschicht passiren, während der heisse Dampf den Apparat durchströmt. Ich ziehe es vor, den Trichter erst mit einem glatten Filter aus doppelter Lage Filtrirpapier auszukleiden und dann den Innenraum zur Hälfte etwa dicht mit Watte oder Glaswolle auszufüllen. Das Filtrat ist dann meist schon das erste Mal ganz klar, sicher aber nach einer zweiten derartigen Filtration.

Das Einfüllen der klaren Agar-Agarlösung in die Reagirgläser geschieht wie bei der Gelatine, das Sterilisiren erfolgt am besten durch strömende Dämpfe oder auch durch gespannte Dämpfe von ca. 110°, da die Fähigkeit des Erstarrens der Agarlösungen durch längeres Einwirken einer Temperatur von 100° bis 110° nicht beeinträchtigt wird. Zu Plattenkulturen verflüssigt man die feste Gallerte durch mehrstündiges Verweilen bei ca. 42° im Wasserbade oder man kocht die Lösung auf, stellt sie dann einige Zeit in Wasser von ca. 42° C., bis sie diese Temperatur erreicht hat. Das Impfen und Vertheilen der Keime in der verflüssigten Agar-Agarlösung geschieht während die Gläser noch in das warme Wasser eintauchen, da diese Lösung unterhalb 40° ihre ganz flüssige Beschaffenheit verliert. Bei Temperaturen über 42°, bei denen die Verflüssigung leichter ist, können manche Keime leiden, so dass die Operationen zwischen 40 und 42° ausgeführt werden müssen. Das Ausgiessen der geimpften Gläser auf die Platte muss möglichst schnell geschehen. Früher passirte es mir bisweilen, besonders wenn die Platten kühl waren resp. zum schnellen Erstarren abgekühlt waren, dass die Agarschicht nicht genügend an der Platte haftete, sondern in ihrer Totalität sich verschob. Ich verwende deshalb jetzt zu Agar vielfach Platten mit einer Emailleerhöhung am Rande und lasse die Platten nach dem Sterilisiren nur auf etwa 38 bis 40° abkühlen, und lasse das Erstarren der warmen Lösung auf den warmen Platten ohne besondere Abkühlung bei Zimmertemperatur vor sich gehen.

Eine ca. 1 bis 2 % ige Agar-Agar-Gelatine ist bei 37° C. so fest, um alle Vortheile des durchsichtigen und festen

[1]) Mikro-Organismen bei den Wund-Infections-Krankheiten des Menschen 1884, S. 16.

Nährbodens auch bei dieser hohen Temperatur im Brütofen zu gewähren. Manche Bakterien wachsen in Agar-Agar schlechter als in Gelatine. Dafür hat aber dieser Nährboden einen von Rosenbach hervorgehobenen und mit grossem Vortheil ausnutzbaren Vorzug, dass die meisten oder sogar alle bis jetzt bekannten Bakterien, welche die Gelatine verflüssigen und bei denen in Folge dessen auf Gelatine kein Oberflächenwachsthum zu Stande kommt, das Agar-Agar nicht verflüssigen, sondern im Gegentheil auf demselben ein mehr oder weniger characteristisches Oberflächenwachsthum zeigen.

Man kann in Folge dessen das Wachsthum auf Agar-Agar benützen zur Ergänzung der Kulturen in Gelatine und dadurch die Zahl der Merkmale, welche schon dem blossen Auge eine Differential-Diagnose gestatten, nicht unwesentlich vermehren, und man vermeidet den Nachtheil, den verflüssigende Bakterien für eine sichere Trennung auf Gelatine haben können.

Miquel[1]) verwendet eine Nährgelatine, der er nachrühmt, dass sie erst zwischen 55 und 60° schmilzt und mehrere Stunden durch 110° sterilisirt werden kann. Es geht schon hieraus hervor, wie allerdings auch aus dem ganzen Inhalte seiner Abhandlung, dass Miquel nur an die Festigkeit bei hoher Temperatur denkt, aber unberücksichtigt lässt, dass das Gelatiniren bei der Koch'schen Methode eine sehr wichtige Rolle spielt und dieses Gelatiniren, der Uebergang aus der Lösung in den festen Zustand, darf nicht bei so hohen Temperaturen stattfinden, dass die Bakterien leiden, wie es bei der Mehrzahl empirisch für Temperaturen feststeht, welche sich von 42° weit entfernen. Miquel setzt entweder direct fucus crispus zur Bouillon oder er bereitet sich in der Regel aus dem Carragheen erst eine Gelatine in folgender Weise: 300 bis 400 gr werden in 10 Liter Wasser mehrere Stunden bei 100° gekocht, dann durch ein Haarsieb gegossen. Das Filtrat wird von Neuem aufgekocht und heiss durch ein feines Colirtuch filtrirt. Das Filtrat wird auf dem Wasserbade langsam eingedampft, dann in Porzellanschüsseln gebracht und auf einem feinen Netze bei 40 bis 45° getrocknet.

---

[1]) Annuaire de l'observatoire de Montsouris pour l'an 1885, S. 569.

Ein Procent dieser fertigen Gelatine soll der Bouillon die Fähigkeit verleihen bei 45° bis zu 50° fest zu bleiben. Da es vielleicht einmal wünschenswerth sein kann andere Substanzen als Agar zu versuchen, habe ich die Vorschrift von Miquel gegeben. Eine Nachprüfung hat mir bis jetzt nicht einen Vortheil gegenüber dem viel angenehmeren Agar gezeigt.

Koch's Methode der Reinkulturen mit festen und durchsichtigen Medien gewährt in Form der Verdünnung durch Plattenkulturen, mit Gelatine bei Zimmertemperatur, mit Agar-Agar für Brüttemperatur, bei grösster Einfachheit die meiste Garantie für sichere und schnelle Trennung differenter, noch so zahlreicher Arten aus Bakteriengemischen und ist bei richtiger Beurtheilung des concreten Falles vorzüglich zu verwerthen zur Trennung und directen Zählung der in einem Gemische enthaltenen Keime.

Der Einwand von Fol[1]), dass auf Nährgelatine bei 12 bis 15° nur 4 % der vorhandenen entwicklungsfähigen Keime zur Entwicklung kommen, ist sicher nur durch eine nicht ganz correcte Anwendung der Gelatinemethode erzielt und lässt ebenso wie der Einwand von Kuisl[2]), dass auf Agarplatten bei 37° von 10000 Keimen nur 50 Colonien auswachsen sollen, die experimentellen und rechnerischen Fehler der zur Controle verwertheten Verdünnungsmethode mit Nährlösungen unberücksichtigt.

Bei dieser schon erreichten grossen Einfachheit der rein technischen Seite der Forschung kann nicht viel von einem

Improvisiren

die Rede sein, da auch hierbei die volle Sicherheit unter allen Umständen gewahrt sein muss. Die Erfahrungen mit den sogenannten expeditiven Methoden haben besonders in der Hygiene für jeden unbefangen Urtheilenden zur Genüge gelehrt, dass nur diejenigen, welche derartige Methoden ausgearbeitet haben, und die gründlich

---

1) Archives des sciences physiques et naturelles 1885, Bd. 13, S. 110.
2) Aerztliches Intelligenzblatt 1885, S. 36.

geschulten und geübten Forscher sich derselben bisweilen mit Vortheil, oft wenigstens ohne Nachtheil bedienen können, während Anfänger und Ungeübte, für die sie eigentlich bestimmt sind, fast ausnahmslos durch dieselben irre geführt werden.

Wer sich mit Bakterien-Forschung wirklich beschäftigen oder gar dienstliche Gutachten auf eigene Beurtheilung gründen will, wird unter allen Umständen neben dem entsprechenden Mikroskope mit Oelimmersion und Abbé'schem Beleuchtungsapparat sich die nothwendigsten Apparate anschaffen müssen. Bei einer etwaigen Reise, einer grösseren oder kleineren Expedition kann es sich dagegen oft darum handeln, nicht zu viel mitzunehmen und die eine oder andere Operation erst ausserhalb ohne die bequemeren Hülfsmittel des Laboratoriums vorzunehmen. Hier wird nur der das Richtige improvisiren, der in Laboratoriums-Arbeiten sich geübt hat und deshalb die Grenzen des mit Sicherheit Erreichbaren beurtheilen kann, oder es müssen diese kleinen Erleichterungen unter sicherer Leitung eingeübt werden wie andere Labaratoriumsarbeiten, dann haben sie aber mit Improvisiren nichts mehr zu thun.

In diesem Sinne kann man statt der Gasflamme sich einer Spiritusflamme bedienen. Die Platten reinigt man mit 1 p. M. Sublimatlösung und Spiritus, trocknet sie über der Spiritusflamme und sterilisirt sie dann dadurch, dass man eine Fläche derselben in ihrer ganzen Ausdehnung in der Spiritusflamme stark erhitzt, wobei man die Platte mit einer Pincette hält. Dann legt man diese Platte mit der erhitzten Seite nach oben auf ein Stück reines Papier, welches auf einem möglichst horizontalen Tische liegt, deckt einen mit Sublimat und Spiritus gereinigten Suppenteller darüber und lässt sie so erkalten.

Hat man keine Gelatine in Reagirgläsern mitgenommen, sondern eine grössere Menge sterilisirter Gelatine in einem grösseren Kolben bei sich, so kann man ein Reagirglas in folgender Weise sterilisiren. Man reinigt es erst mit 1 p. M. Sublimat und Spiritus, entfernt den Spiritus und trocknet das Glas, indem man es über eine Spiritusflamme hält. Dann wird ein Wattpfropf mit einer stark erhitzten Pincette einige Centimeter weit in das Reagirglas eingeschoben, darauf der untere Theil des Glases über der Flamme bis zum Watt-

pfropf stark erhitzt. Nachdem das Glas so weit abgekühlt ist, dass man es am unteren Theile anfassen kann, wird das obere Drittel so stark und lange erhitzt bis die Watte sich bräunt. Nach dem Abkühlen zieht man mit erhitzter Pincette den Wattpfropf so weit hervor, dass man ihn mit den Fingern fassen kann.

Ein so sterilisirtes Reagirglas füllt man zu $^1/_3$ mit der inzwischen in heissem Wasser verflüssigten Gelatine, setzt den Pfropf wieder auf, kocht der Vorsicht halber die Gelatine noch einmal auf und lässt sie, event. durch Eintauchen in kaltes Wasser, so weit erkalten, dass sie gerade noch gut flüssig zum Impfen und Vermischen der Keime ist.

Das Ausgiessen der Gelatine auf die Platte geschieht nicht mit der ganz flüssigen Gelatine, weil die Platte nicht vollständig horizontal liegt, sondern erst dann, wenn die Gelatine ganz zähflüssig geworden ist, aber noch vor Auftreten von Klumpen.

Als feuchte Kammer kann man zwei übereinander gelegte Teller benützen, deren unteren man mit Fliesspapier auskleidet, welches angefeuchtet wird. Zwei hineingelegte Stückchen Holz dienen dann der Platte statt der Glasbänke als Unterlage.

B. Durchsichtige, feste Substrate ohne Zusatz gelatinirender Substanzen; Blutserum. Taf. II. Fig. 7 und 8.

Für einige pathogene Bakterien waren die durchsichtigen festen Medien in Form der Gelatinekulturen, auch wenn zur Erreichung der Bluttemperatur Agar-Agar verwendet wurde, nicht geeignet. In diesen Fällen schlug Koch, unter strenger Wahrung des Princips der Festigkeit und Durchsichtigkeit der Nährmedien, einen ganz anderen Weg ein. Koch[1]) hatte beobachtet, dass sterilisirtes Blutserum beim Erwärmen über 65°, aber vor Erreichen der Gerinnungstemperatur, starr wurde ohne seine Durchsichtigkeit zu verlieren.

Ein derartig fest gewordenes, aber durchsichtiges Blutserum wurde nun als Nährboden eingeführt.

---

[1]) Berliner klinische Wochenschrift 1882 No. 15 und Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte II. 1884 S. 48.

Zum Auffangen des Blutes dienen cylindrische, ca. 20 cm hohe und 8 bis 10 cm weite, mit Glasstöpsel versehene Glasgefässe. Diese Gefässe werden nach vorausgegangener mechanischer Reinigung durch Spülen mit 1 p. M. Sublimat sterilisirt; nach Ausgiessen des Sublimats wird der Rückstand desselben mit Alkohol entfernt, der Alkohol abgegossen und der Rest desselben mit Aether aufgenommen und dieser letztere durch Erwärmen im Trockenschrank verdunstet. Unter Oeffnen der Glasstöpsel lässt man das Blut der Schlachtthiere in dieses Gefäss hineinfliessen. Die Umgebung der Stichöffnung muss gut gereinigt, zum mindesten gründlich angefeuchtet werden. Das unmittelbar nach dem Stiche abfliessende Blut, welches Schmutzpartikel der Haut und des Felles und abgeschnittene Haare mit wegspült, fängt man nicht auf. Das Gefäss wird nahe bis zum Rande gefüllt, mit Stöpsel geschlossen und baldigst in einen Eisschrank gestellt, in welchem es 24 bis 30 Stunden ruhig stehen bleibt, um die Bildung eines festen Blutkuchens zu ermöglichen. Wird das Gefäss während der Bildung des Blutkuchens bewegt, so werden dem Serum Blutkörperchen beigemengt, welche das Serum beim Erwärmen nicht vollständig klar werden lassen. Bei gehöriger Ruhe und Zeit bildet sich über dem Blutkuchen eine reichliche Schicht von vollkommen durchsichtigem, bernsteingelb gefärbtem Serum. Mit sterilisirten Pipetten nimmt man dasselbe auf und füllt es in sterilisirte Reagirgläser, welche zu $^{1}/_{3}$ gefüllt und dann mit Wattepfropf verschlossen werden.

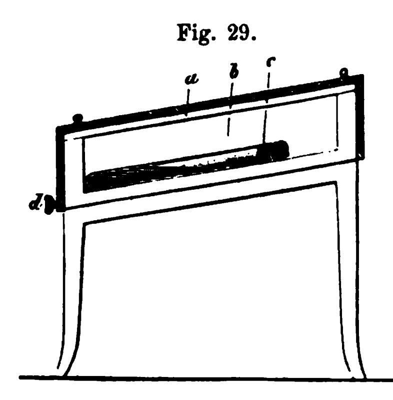
Das Sterilisiren kann nur unterhalb der Gerinnungstemperatur des Eiweisses durch discontinuirliches Erwärmen geschehen. Man setzt zu diesem Zwecke die Reagirgläser in den mit passenden Einsätzen versehenen Apparat, Fig. 3; die Temperatur des Innenraums L wird auf ca. 58° gehalten. Dieser Temperatur wird das Blutserum 5 bis 6 Tage lang täglich 1 bis 2 Stunden ausgesetzt. Etwas unbequemer kann man dies auch im Wasserbade erreichen. Auf dem flüssigen, sterilisirten Blutserum bildet sich oft ein Häutchen von Cholestearin, welches nicht mit den Bakterienhäutchen zu verwechseln ist.

Miquel und van Tieghem (cfr. S. 14) haben Bakterien beobachtet, welche im vegetativen Zustande erst zwischen 72 und 74°

abstarben, und Duclaux giebt von einer Art sogar an, dass sie in alkalischen Flüssigkeiten im vegetativen Zustande sogar 100° ertragen könne. Hieraus leitet Miquel die Berechtigung her, die Methode principiell zu verwerfen. Da aber zu einer Methode die Berücksichtigung aller Momente gehört und man sich durch richtige Entnahme des Blutes schon fast vollständig gegen diese Möglichkeiten schützen kann, so ist durch tausende von Einzelversuche nachgerade sichergestellt, dass vollständige Sterilisirung von Blutserum auf diesem Wege möglich ist und dass die Zahl der missglückten Versuche kaum grösser ist als bei anderen Lösungen bei Verwendung von Temperaturen von 100 bis 110° und erheblich geringer als bei der Sterilisirung durch Filtration ohne Anwendung von Wärme. Die Verwendung von Blutserum, welches keinerlei Alteration erfahren hat und welches durch Filtration etwaiger Keime beraubt ist, bleibt für viele Fälle höchst wünschenswerth.

Dieses sterilisirte flüssige Blutserum, welches als solches öfters verwendet wird, wird nun zum Erstarren gebracht und zwar zur Erzielung einer möglichst grossen Oberfläche in stark geneigter Lage der Reagirgläser. Hierzu benutzt man einen mit Glasdeckel versehenen Blechkasten mit doppelter Wandung, welcher zur Aufnahme von Wasser dient. Die vordere Seite dieses Kastens kann durch Stellschrauben, d in Fig. 29, tiefer gestellt werden als die Rückseite. Man stellt den Kasten so schräg, dass das Blutserum bis zum oberen Drittel der Reagirgläser c reicht, aber ohne den Wattpfropf zu berühren.

Fig. 29.



Die Regulirung der Temperatur des Luftraumes b geschieht durch ein zwischen die Reagirgläser auf den Boden gelegtes Thermometer. Die Seiten und der Deckel a sind durch Filzplatten gegen Abkühlung geschützt. Das Erstarren geschieht bei 65°; je höher die Temperatur über 65° steigt, je mehr sie sich der Gerinnungs-

temperatur von 75° nähert, desto schneller geht das Erstarren vor sich. Aber die Durchsichtigkeit wird um so besser erreicht, je niedriger die Temperatur ist; das Serum wird mit Annäherung an die Gerinnungstemperatur immer undurchsichtiger. Es ist deshalb die Temperatur von 65° möglichst genau innezuhalten und mindestens 68° nicht zu übersteigen. Das Blut verschiedener Thiere erstarrt verschieden schnell, am schnellsten das Hammelblut, am langsamsten das Kalbsblut; im Allgemeinen beträgt die Zeit $^1/_2$ bis 1 Stunde. Statt Blutserum verwendet man auch vortheilhaft Exsudate der Pleura etc., Hydroceleflüssigkeit. Der neue Apparat von Müncke (S. 16) zum Sterilisiren des Blutserum ist gleichzeitig zum Erstarren desselben eingerichtet, so dass der besondere Apparat, Fig. 29, wegfällt.

Ein richtig zum Erstarren gebrachtes Blutserum ist fest und hart wie hartgekochtes Hühnereiweiss, bernsteinartig, durchscheinend und nur in den unteren dickeren Parthieen schwach milchig getrübt.

Das während des Erwärmens an der oderen kühleren Wand des Reagirglases sich bildende Condensationswasser sammelt sich beim Aufrichten des Reagirglases am Boden, Taf II Fig. 7 und 8, und bildet durch Aufnahme löslicher Substanzen eine Nährlösung, so dass man, Fig. 7, nach der Impfung gleichzeitig das Wachsthum auf festem und flüssigem Nährboden beobachten kann, wenn man bis zum Rande der Flüssigkeit impft. Durch Verdunstung trocknet das Serum allmählich von oben anfangend ein, doch bleiben monatelang die mittleren und unteren Parthieen brauchbar.

Löffler[1]) ermittelte, dass Lösungen, welche den Nährwerth des Blutserums erhöhen, in geringer Menge zugesetzt, die Fähigkeit desselben, durchsichtig zu erstarren, nicht herabsetzen, so dass man öfters vortheilhaft statt des reinen Blutserums ein solches verbessertes Blutserum verwenden kann. Löffler fügte zu 3 Theilen Blutserum 1 Theil Fleischinfus hinzu. Das Fleischinfus wird nach den S. 114 gegebenen Vorschriften hergestellt, dann fügt man hinzu 1% Pepton, 1% Traubenzucker, 0,5% Kochsalz,

[1]) Mittheilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte Bd. II, 1884, S. 452 und 461.

kocht auf, neutralisirt mit Natriumcarbonat, kocht auf dem Wasserbade bis zur völligen Ausfällung der Albuminate und filtrirt. Diese Bouillon wird im Dampfkessel sterilisirt und nach dem Abkühlen dem Serum zugesetzt und darauf das Serum mit dem Bouillonzusatze discontinuirlich sterilisirt und zum Erstarren gebracht. Selbstverständlich kann man auch andere Zusätze machen, z. B. Lösungen von Fleischextract mit Zucker etc.

Da die Reagirglaskulturen nicht direct mit dem Präparirmikroskope controlirt werden können, kann man auch das Blutserum in Uhrgläsern oder Glasklötzchen mit Aushöhlung, welche mit einer Glasplatte bedeckt werden, erstarren lassen, verzichtet aber dann auf den sicheren Schutz, welchen der Watteverschluss der Reagirgläser bildet.

Zum Impfen der Reagirgläser werden dieselben mit der linken Hand möglichst horizontal gehalten; dann die Platinöse in die Impfsubstanz eingetaucht, darauf mit dem 4. und 5. Finger der rechten Hand der vorher gelockerte Wattepfropf herausgezogen und das in der Platinöse befindliche Material durch festes, streichendes Andrücken an die Oberfläche des starren Serums auf dasselbe übertragen und darauf der Wattepfropf wieder aufgesetzt.

Da einerseits in den Reagirgläsern eine directe mikroskopische Controle, und andererseits ein Isoliren der Keime durch das Erstarren selbst nicht möglich ist, wie bei den gelatinirenden Substanzen der Objectträger- und besonders der Plattenkulturen, so muss man von jedem Materiale mehrere, bis zu 10, Einzelversuche machen und ausserdem ein möglichst reines Impfmaterial besitzen. Diese beiden Momente lassen die Blutserumkulturen gegenüber den Gelatine- und Agar-Agar-Plattenkulturen als unvollkommener erscheinen. Aber bei Ueberwindung dieser technischen Schwierigkeiten ist es durch das Festhalten an dem Princip der Durchsichtigkeit und Festigkeit, welches Koch's Methode so fundamental von allen anderen scheidet, gelungen, durch das starre Blutserum tadellose Reinkulturen von obligat parasitischen Bakterien zu erhalten, bei denen jede andere Methode bis jetzt versagte.

Die Gewinnung eines reinen Ausgangsmaterials für die Blutserumkulturen.

bedarf noch einiger Erläuterungen, besonders für die Fälle, in denen wie bei der Tuberkulose die gesuchten Organismen so langsam wachsen, dass in der Zwischenzeit etwaige Mitbewerber Alles überwuchern. Dass diese Cautelen auch für die Plattenkulturen eine gute Vorbereitung sind, bedarf keiner besonderen Hervorhebung.

Durch die vorausgegangene mikroskopische Durchmusterung von Schnittpräparaten der verschiedenen Organe, von Gewebssäften und Blut hat man sich darüber orientirt, an welchen Orten die suspecten Bakterien am sichersten und in reinstem Zustande zu treffen sind. Unter Beobachtung dieses Punktes gestaltet sich die Entnahme am sichersten, wenn die Impfsubstanz frisch getödteten oder gestorbenen Thieren unmittelbar nach dem Tode entnommen wird. Die Entnahme wird in dem Maasse schwieriger und unsicherer, je längere Zeit nach dem Tode verflossen ist, weil dann die Möglichkeit einer Vermischung mit den schnell wachsenden Fäulnissorganismen immer mehr zunimmt.

„Alle vorbereitenden Schnitte, welche die Impfsubstanz selbst nicht berühren, sind nach Koch[1]) mit heissen Instrumenten auszuführen, die Impfmasse aber mit abgekühlter Scheere und Pincette herauszuschneiden" resp. mit abgekühlter Platinöse zu entnehmen. „Stets hat man mit geglühten Instrumenten zu operiren, welche jedesmal, wenn eine neue Schicht bloszulegen ist, gewechselt werden. Der stete Wechsel der Instrumente ist nothwendig, damit Verunreinigungen, welche sich beim Durschschneiden der Haut und der oberflächlichen Schichten den Instrumenten anhängen, nicht in die Kulturen verschleppt werden."

Mit Rücksicht auf diese Ermittelungen gestaltet sich das Vorgehen derart, dass nach Aufspannen oder Aufnageln des Thieres auf ein Secirbrett, das Fell, soweit der Schnitt ausgeführt werden soll, in gehöriger Ausdehnung mit 1 p. M. Sublimatlösung gründlich angefeuchtet wird, um beim Anfassen und Einschneiden ein Verstäuben von Schmutz, Haaren etc. möglichst zu vermeiden; Mäuse befestigt

[1]) Mittheilungen Bd. II, 1884, S. 50.

man auf ein kleines Brett, indem man durch die ausgespannten Füsse Nadeln sticht und event. noch mit einer 5. Nadel durch das Maul den Kopf fixirt. Bisweilen ist es gut die Haare oder Federn auf eine grössere Strecke möglichst zu entfernen und dann erst die blosgelegte Strecke mit Bürste und Seife und darauf mit Sublimatlösung zu reinigen. Eine Anzahl Messer, Scheeren, Pincetten werden vorher in den Flammen ausgeglüht und unter einer Glocke, gegen Berührung und Staub geschützt, niedergelegt. Die gebrauchten Instrumenten werden sofort in 1 $^0/_{00}$ Sublimat oder 3 % wässrige Carbolsäure gelegt, und nach dem Versuche sorgfältig gereinigt und getrocknet und event. noch durch die Flamme gezogen. Dann wird die Haut in entsprechender Ausdehnung, bei grösseren Thieren mit noch heissem Skalpell, bei kleineren mit heisser Pincette und Scheere durchschnitten und auf beiden Seiten so weit zurückgelegt, um frei weiter operiren zu können.

Mit einer zweiten heissen Pincette oder Scheere wird nun, wenn die Entnahme an der Pleura oder Lungenoberfläsche stattfinden soll, ein 1 bis 2 qcm grosses Fenster aus der Brustwand herausgeschnitten und dadurch die Oberfläche der Lunge blosgelegt. Ist hierbei eine afficirte Stelle, z. B. Tuberkelknötchen, blosgelegt, so nimmt man ein oder mehrere derartige Knötchen mit abgekühlten Instrumenten heraus. Um speciell die in den Tuberkelknötchen befindlichen Bakterien frei zu machen, zerschneidet man mit abgekühltem Messer oder Scheere ein Knötchen und versucht aus dem Innern mit abgekühlter Platinöse Partikelchen zu entnehmen, die man auf die Oberfläche des Blutserums impft, oder man zerquetscht ein Knötchen zwischen zwei abgekühlten Skalpellen und nimmt mit Platindraht diese zerquetschte Masse um sie zu verimpfen. Bei weniger harter Constistenz schneidet man mit abgekühltem Messer ein und entnimmt das Material mit der Platinöse. Um Pleuraflüssigkeit zu entnehmen kann man nach Salomonsen[1]) die blosgelegte Pleura in einem Intercostalraum mit heissem Glasstabe cauterisiren und durch den Schorf mit sterilisirter Capillarröhre, Nadel, Platinöse oder Messer in die Pleura eindringen.

---

[1]) Bakteriologisk Teknik, 1885, S. 60.

Soll Blut aus dem Herzen entnommen werden, so wird, nachdem die Haut ebenso durchschnitten ist, der Brustkorb mit heisser Pincette und heissem Messer resp. Scheere über dem Herzen geöffnet, so dass das Herz mit seinem Pericardium freigelegt wird ohne dass der Inhalt der Bauchhöhle mit den Instrumenten in Berührung kommt; dann wird das Pericardium mit frischen Instrumenten geöffnet. Darauf fasst man die Herzspitze mit abgekühlter Pincette und öffnet mit abgekühltem Skalpell eine Herzhöhle, aus der man mit abgekühlter Platinöse oder Capillarröhre das zu übertragende Blut entnimmt.

Soll ein anderes Organ gewählt werden aus der Bauchhöhle, so wird dasselbe, bei derselben Art der Eröffnung der Bauchhöhle, mit geglühten Instrumenten herausgenommen, auf einen reinen Untersatz oder Fliesspapier gelegt und dann nur die bindegewebige Umhüllung eingeschnitten; darauf fasst man die Ränder mit zwei abgekühlten Pincetten und reisst das Organ tief ein, dann entnimmt man mit Platinöse aus der Tiefe des Risses Gewebssaft oder Gewebspartikel. Zur schnellen Entfernung der Milz, legt man das Thier auf die rechte Seite, so dass die Milz sofort bequem vorliegt und ein längeres Manipuliren mit den benachbarten Organen wegfällt.

Bei oberflächlich gelegenen Lymphdrüsen schneidet man die Haut wieder in derselben Weise durch, fasst dann die Drüse mit abgekühlten Instrumenten und schneidet sie in situ durch zur Entnahme aus dem Innern; oder löst sie aus der Umgebung, legt sie auf eine vorher geglühte und wieder abgekühlte Glasplatte, schneidet oder reisst sie ein und entnimmt aus dem Innern Saft oder Gewebspartikel.

Wenn Blut intra vitam zu Kulturen entnommen werden soll, so kann dies mit einer Haarröhre nach Salomonsen oder mit dem Kolben von Chamberland geschehen. Man kann auch bei Gelegenheit eines Aderlasses Tropfen Blut aus einer Hautvene mit Platinöse entnehmen. Am einfachsten ist es, eine Hautstelle von den Haaren zu befreien, die Stelle mit Bürste und Seife zu reinigen, dann mit 1 p. M. Sublimatlösung abzuwaschen, mit Alkohol und endlich mit Aether die letzten Spuren Sublimat zu entfernen. Dann

sticht man mit sterilisirter Nadel ein oder macht mit sterilisirtem Messer einen leichten Schnitt, nimmt die ersten vorquellenden Tropfen mit Platinnadel weg und braucht die später vorquellenden Tropfen zum Impfen.

Zur Entnahme von Hautstückchen wählt man bei Erysipelas und ähnlichen in der Haut verlaufenden parasitären Processen eine Stelle, an welcher der Process vorwärtsschreitet. Die Haut wird in derselben Weise gereinigt und dann mit geglühten Instrumenten ein Stückchen Haut herausgeschnitten, welches event. noch weiter zerkleinert resp. zerquetscht wird.

W. und R. Hesse[1]) schlugen folgendes Verfahren ein um die anaerobiotischen Bacillen des malignen Oedems zu gewinnen, nachdem durch Impfungen an Mäusen die übrigen zuerst mit übertragenen Bakterien durch diese Infectionsmethode beseitigt waren und das subcutane Gewebe, der an der Schwanzwurzel geimpften Mäuse, eine Reinkultur repräsentirte. Nach Aufspannen der Mäuse wurden die Haare am Rücken und an den Seiten mit dem Paquelin'schen Platinbrenner, event. mit Galvanokauter abgesengt; event. ist statt dessen eine sorgfältige Reinigung mit Bürste, Seife und Sublimat anzuwenden. Darauf wird ein breiter Streifen aus der Rückenhaut gebildet, indem von dem einen Hinterbeine die Seite hinauf bis zum Halse, über den Hals hinweg und die andere Seite hinunter bis zum anderen Hinterbeine ein bis auf die Haut gehender Schnitt geführt wird. Dieser Streifen wird mit geglühter Pincette gefasst und soweit zurückgeschlagen, dass er hinter dem Thiere mit Nadeln befestigt werden kann und etwa die Mitte des Rückens frei liegt. An der so gebildeten Falte werden Stückchen ausgeschnitten und in 1% Agar oder in Gelatine tief eingesenkt, um die Luft möglichst abzuschliessen.

Ist schon einige Zeit nach dem Tode verstrichen, so müssen die Organe erst gründlich von aussen anhaftenden Fäulnissorganismen gereinigt werden. Nach Koch l. c. erreicht man dies, indem man das Organ wiederholt und gründlich in 1 p. M. Sublimatlösung wäscht, dann mit zu jedem Schnitte gewechselten, heissen Instru-

[1]) Deutsche med. Wochenschrift, 1885, S. 214.

menten von der Oberfläche ab Schichten des Organs abträgt und erst in grösserer Tiefe den Gewebssaft oder Gewebspartikel entnimmt.

Bei grösseren Organen z. B. der Milz, legt man nach Gaffky[1]) nach gründlichem Waschen in 1 p. M. Sublimatlösung zuerst einen fast das ganze Organ trennenden Längsschnitt. Dann wird mit einem zweiten sterilisirten Messer auf die gewonnene reine Schnittfläche ein nirgends bis an die Kapsel reichender Schnitt geführt, auf diesen ein dritter und erst dann aus der Tiefe Gewebssaft oder Partikel entnommen.

Nach Löffler[2]) verfährt man, um selbst hochgradig verunreinigte Organe noch zu verwerthen, derart, dass man das Organ erst 10 Minuten, unter stetem Bewegen mit einem Glasstabe, in einer 5%igen Carbolsäurelösung lässt, um alle an der Oberfläche haftenden Kokken, Bacillen, Hefen etc. zu vernichten. Zum Vernichten etwaiger Bacillensporen kommt dasselbe dann noch 5 Minuten in 1% Sublimatlösung. Dann wird es herausgenommen und auf reines Fliesspapier gelegt. Wenn die Oberfläche trocken geworden ist, schneidet man mit heissem Messer die bindegewebige Umhüllung ein, reisst das Organ, indem man die Schnittränder mit heissen Pincetten fasst, auseinander und entnimmt aus der Tiefe an diesen Rissflächen das Impfmaterial.

Es versteht sich wohl von selbst, dass man nicht nöthig hat den schulgerechten Gang einer Section inne zu halten, sondern dass man sich in erster Linie durch den Zweck bestimmen lässt und möglichst schnell und vorsichtig das Organ in Arbeit nimmt, aus dem die Kulturen angelegt werden sollen.

Wie im concreten Falle

der Gang der Kultur

sein soll, ergiebt sich aus dem spontanen Vorkommen der Bakterien.

Bei den saprophytischen Arten, den Pigment- und Fermentbakterien, wird man in der Regel mit Plattenkulturen von Gelatine

---

1) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, 1885, Bd. II, S. 386.
2) ibid. S. 451.

oder Agar-Agar das Ziel erreichen. Man wird hierbei die kleinen Vortheile, welche eine Massenkultur gewährt, meist vortheilhaft anwenden, besonders auch unter Berücksichtigung der Erhitzung und der Anaerobiose, welche sich auch bei den Plattenkulturen verwerthen lässt.

Von den parasitischen Bakterien werden mit grösster Wahrscheinlichkeit diejenigen, bei denen die Epidemiologie einen Fingerzeig giebt, dass sie wahrscheinlich facultative Parasiten oder facultative Saprophyten sind und sich ganz oder unter bestimmten Verhältnissen ausserhalb des thierischen Organismus erhalten können, in Gelatine- oder Agar-Agar-Plattenkulturen rein gewonnen werden können.

Bei den obligat parasitischen Bakterien, wie es in mehr oder weniger hohem Grade die Parasiten der rein contagiösen Krankheiten sind, stehen zur Zeit nur die Blutserumkulturen zu Gebote unter Berücksichtigung der Momente zur Gewinnung eines reinen Ausgangsmaterials. Für diese Organismen wird in Zukunft vielleicht noch neben dem erstarrten Blutserum, das ohne Erhitzung und nur durch Filtration sterilisirte flüssige Blut von Bedeutung.

Für diejenigen Bakterien, welche sich bis jetzt auf festem Nährboden nicht oder nur schlecht gewinnen liessen, sei es nun, dass die Festigkeit als solche störend war oder dass die Gelatine oder das Agar-Agar das hindernde Moment waren, und für diejenigen mehr amoeboiden parasitischen Mikroorganismen, welche möglicherweise der einen oder anderen Krankheit zu Grunde liegen können, wird man am besten auf die bis zur Ein-Zell-Kultur getriebene Verdünnungsmethode recurriren, welche zwar erheblich umständlicher, aber bei viel Uebung recht zuverlässig ist und von allen anderen Methoden weitaus am meisten leistet und sogar vorzüglich zu verwerthen ist, wenn man secundäre Momente zu Hülfe nehmen kann, um vorher, wenn auch nicht ganz, so doch leidlich reine Massenkulturen zu gewinnen. Für derartige pathogene Organismen dürfte wohl das flüssige durch discontinuirliches Erwärmen sterilisirte Blutserum und das durch Filtration sterilisirte die wichtigste und universellste Normallösung bilden.

Für andere Mikroorganismen, wie Schimmelpilze, Hefen, lässt sich der feste Nährboden, sowohl in undurchsichtiger Form der Kar-

toffelscheiben, des Kartoffelbreies und eines dicken Brodbreies verwerthen, als auch in der durchsichtigen Form der Gelatine-, Agar-Agar- und Blutserum-Kulturen. Man hat nur auf die Reaction zu achten und dieselbe in der Regel im Gegensatze zu den Bakterienkulturen schwach sauer zu halten und für die Nährsubstrate das spontane Vorkommen in Betracht zu ziehen.

Während man früher in den Reinkulturen nur ein Mittel zum Zwecke einwandsfreier positiver Uebertragungen sah, hatte Koch auf Grund der in den Reinkulturen sich manifestirenden biologischen Eigenschaften erklärt, dass nicht der geringste Grund vorliege, die Aetiologie des Milzbrandes durch eine fortlaufende Anpassung ganz harmloser Schmarotzer an die parasitische Lebensweise zu erklären, sondern dass die Milzbrandbacillen für die Erhaltung der Art gar nicht auf den thierischen Körper angewiesen sind, dass sie ausserhalb des Organismus, wenigstens zeitweilig, alle Lebensbedingungen finden und dass ihr Parasitismus nur ein gelegentlicher ist.[1]) Dann gelang es Koch zum ersten Male, die Parasiten einer contagiösen Krankheit, der Tuberkulose, künstlich ausserhalb des thierischen Körpers zu züchten[2]) und Brefeld[3]) entwickelte auf Grund seiner Ermittelungen über das saprophytische Stadium der parasitischen Brandpilze der Cerealien die Ansicht, dass es auch bei den „Parasiten im engsten Sinne" bei Anwendung der richtigen Methoden gelingen dürfte, sie von dem parasitischen Leben wieder abzubringen. Im Anschlusse hieran führte ich aus,[4]) dass jede Reinkultur nichts anderes ist als das saprophytische Stadium parasitischer Mikroorganismen, und ähnlich fasst de Bary[5]) die Fähigkeit des „Gezüchtwerdens" parasitischer Bakterien in todter organischer Substanz auf.

[1]) Zur Aetiologie des Milzbrandes. Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte Bd. I, 1881, S. 49.

[2]) Berliner klin. Wochenschrift 1882, No. 15.

[3]) Die künstliche Kultur parasitischer Pilze. Botanische Untersuchungen über Hefenpilze V, 1883, S. 1.

[4]) Fortschritte der Medicin 1884, No. 2, S. 70.

[5]) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze 1884, S. 526.

IV. Uebertragungen zum Nachweise der causalen Beziehungen der Bakterienvegetationen zu Zersetzungen und Krankheiten.

A. Saprophytische Bakterien.

Die zersetzungfähigen Substrate, Lösungen von Zucker, Glycerin etc., werden nach den Anhaltspunkten hergestellt, welche das spontane Vorkommen an die Hand giebt. Die Einzelheiten der Herstellung sind bei den Kulturen in Flüssigkeiten schon besprochen, ebenso die Methoden des Sterilisirens. Zu den qualitativen Versuchen füllt man die Lösungen in Reagirgläser und kleine Kölbchen, zu den quantitativen Versuchen nimmt man Literkolben und noch grössere Kolben, welche über dem Watteverschluss noch eine Kappe von einer doppelten Lage Filtrirpapier erhalten haben. Will man untersuchen, welchen Grad der Zersetzung die Bakterien spontan herbeiführen, so erhalten die Lösungen keine Zusätze, sollen aber die Substanzen chemisch ausgenutzt werden, so werden entsprechende Zusätze von reinstem kohlensauren Kalk gemacht um die sich bildenden Säuren in dem Maasse ihres Entstehens sofort zu neutralisiren.

Die Impfungen werden derart vorgenommen, dass man mit einer Platinnadel von einer Reinkultur in Gelatine oder Agar-Agar unter Controle des Mikroskops eine Spur entnimmt und dieselbe unter schnellem Oeffnen in die Lösung bringt. In diesem Falle bringt man nicht nur einen Keim, sondern eine grosse Anzahl derselben Keime ein, welche dadurch sofort in die Lage versetzt werden, etwaige Mitbewerber in der zusagenden Lösung leichter zu unterdrücken. War die Reinkultur durch die Verdünnungsmethode als Ein-Zell-Kultur hergestellt, so überträgt man mit sterilisirten Pipetten die

Volumeneinheit (ein Tropfen, ein Cubikcentimeter) mit dem einen hypothetischen Keime in die sterilisirte Lösung.

Da eine Luftinfection in Flüssigkeiten nicht sofort erkennbar und die bei den Kulturen in Flüssigkeiten und bei den fractionirten Kulturen besprochene Möglichkeit nie ganz auszuschliessen ist, dass irgend ein derartiger zufällig hineingelangter Keim von gewöhnlichen saprophytischen Bakterien alle Anderen überwuchert, muss man bei allen Untersuchungen in Flüssigkeiten eine grössere Zahl Einzelversuche ansetzen. Es empfiehlt sich diese Uebertragungen in einem feucht gehaltenen Glaskasten vorzunehmen.

Eine gewisse Begünstigung des Wachsthums und der Wirkung erfahren wohl alle saprophytischen Bakterien durch Steigerung der Temperatur. Aber das Temperaturoptimum der verschiedenen Arten schwankt und liegt für viele Fermentbakterien ungefähr bei der Bluttemperatur. Man muss deshalb nach der Beschickung der Lösungen einzelne bei Zimmertemperatur, andere bei Brüttemperatur halten, um die zusagende Temperatur in Kürze annähernd zu ermitteln.

Die Controle erfolgt nach drei Richtungen, indem einmal sterilisirte, ungeimpfte Lösungen denselben Aussenbedingungen ausgesetzt werden, zweitens durch das Mikroskop und drittens durch Reinkulturen.

Wenn in den geimpften Lösungen sich für das Auge eine Aenderung bemerkbar macht, z. B. durch Trübungen, Wolken, Häutchen, Blasenbildung, so wird die Lösung mikroskopisch durch Deckglas-Trockenpräparate geprüft, indem man vorsichtig mit sterilisirten Instrumenten, Platinöse oder Pipette, Proben entnimmt. Man achtet, ob nur ein und dieselbe Form vorhanden ist und ob die Formen identisch sind mit den in den Reinkulturen beobachteten. Differenzen können daher rühren, dass die Lösungen den Bakterien mehr zusagen als die Nährgelatine. Dann stellen sich auf der Höhe der Gährungen und noch mehr gegen Ende derselben bisweilen Involutionsformen ein, oder es treten in mehr typischer Weise bei einzelnen Bakterien, besonders den Stäbchen, eigenthümliche Erweiterungen ein, welche den Stäbchen eine Wetzstein-, Spindel- oder Kaulquappenform verleihen. Wenn solche Erscheinungen beobachtet

werden, ist zu ermitteln, ob derartige Formen mit der Gährwirkung, d. h. gesteigerter Function, zusammenhängen, oder ob sie im Gegentheil das erste sichtbare Zeichen der totalen oder partiellen Erschöpfung des Nährbodens sind, ob sie die Sporenbildung vorbereiten, durch welche bei Erschöpfung des Substrates die Erhaltung der Art gesichert wird.

Hierüber gibt das Mikroskop allein keine Auskunft. Man macht deshalb sofort, wenn man derartige Formen sieht, Kulturen, in denen verschiedene Arten sich entwickeln, wenn neben den verimpften fremde Bakterien sich eingeschlichen haben, in denen nur die verimpfte Art auftritt bei wirklich reiner Uebertragung. Bei derartigen Control-Kulturen, welche möglichst schnell Aufschluss geben sollen, machen sich die eigenthümlichen Vorzüge der Gelatine-Plattenkultur sehr eklatant bemerkbar.

Neben dem Temperaturoptimum ist besonders das Sauerstoffoptimum zu beachten. Während viele saprophytische Bakterien, die Erreger der Oxydationsgährungen und die gewöhnlichen aerobiotischen Formen in dieser Hinsicht keine besondere Beachtung beanspruchen und bei Luftzutritt sowohl in Flüssigkeiten als in gelatinirten Lösungen leicht rein gewonnen werden können, zeigen andere Formen eine grössere Intensität des Wachsthums und der Wirkung, wenn die Luft nicht ganz frei zutritt. Bei spontanem Vorkommen haben diese Bakterien eine Neigung zur Hydrobiose, d. h. sie entwickeln sich weniger an der Oberfläche als vielmehr mit Vorliebe im Innern der Flüssigkeiten. Hier ist der Zutritt von Sauerstoff wohl erschwert, aber es steht den Bakterien immer absorbirter Sauerstoff zu Gebote. Ob das Extrem, welches Pasteur zum Ausgange seiner gährungstheoretischen Betrachtungen machte, die Anaerobiose in der Weise vorkommt, dass der Luftsauerstoff wie ein Gift wirkt, ist sehr zweifelhaft, da bei allen derartigen Experimenten noch andere Factoren mit in's Spiel kommen und die meisten der Anaerobiose fähigen Bakterien bei nicht ganz behindertem Sauerstoffzutritt, ceteris paribus, ihre Wirkungen besser ausführen können, als bei vollständigem Abschlusse der Luft.

Auch die anaerobiotischen Bakterien kann man mit

Gelatine- und Agar-Agar-Kulturen rein gewinnen, weil meist schon eine Beschränkung des Luftzutritts die genügende Intensität des Wachsthums garantirt. Man kann dies erreichen in den dicken Schichten der Reagirglaskulturen und noch besser, wenn man nach Koch[1]) auf die Gelatine- oder Agar-Agarplatten, wenn die Gelatine eben zu erstarren beginnt, ein dünnes Blatt von Marienglas oder Glimmer auflegt, welches mindestens ein Drittel der Gelatineoberfläche in der Mitte bedeckt. „Das Glimmerblatt legt sich wegen seiner Elasticität vollständig der Gelatinefläche an und sperrt also an der bedeckten Stelle die Luft ab". Anaerobiotische Bakterien wachsen auch unter der Glimmerplatte zu Colonien aus, während exquisit aerobiotische unter der Platte nur etwa 2 mm weit gut wachsen, „bis wohin noch eine Diffusion der Luft dringen kann". Von den aerobiotischen Bakterien bilden sich unter der Glimmerplatte nur „ganz ausserordentlich kleine, dem blossen Auge nicht sichtbare Colonien, die wahrscheinlich von dem noch in der Gelatine enthaltenen Sauerstoff ihr Dasein gefristet haben, die sich aber nachher nicht weiter vergrössern." Man kann auch die geimpften Platten- und Reagirglaskulturen ohne solche Glimmerplatten unter die Glocke der Luftpumpe bringen, oder in Glocken, in welchen die Luft durch Kohlensäure möglichst verdrängt ist.

Auf diese Weise wird es möglich, die Vortheile des festen und durchsichtigen Nährbodens zur Gewinnung von Reinkulturen auch für die anaerobiotischen Bakterien auszunutzen.

Daneben ist es aber nöthig

Versuche über Anaerobiose in Flüssigkeiten

zu machen, einerseits um die Zersetzungen bei Abschluss und Beschränkung von Luftsauerstoff zu studiren und dann auch, um mit Hülfe der Anaerobiose durch Massenkulturen die anaerobiotischen Bakterien von den rein aerobiotischen zu trennen, wie dies von

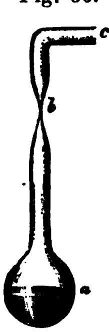
[1]) Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage. Berl. klin. Wochenschrift 1884, No. 31 ff., und deutsche med. Wochenschrift 1884, No. 32 ff.

Fitz[1]) mit Erfolg geschehen ist, um mit diesem Ausgangsmaterial durch Verdünnung Ein-Zell-Kulturen zu gewinnen.

Die Versuchsanordnungen über Anaerobiose lassen sich eintheilen in solche, bei denen a) nur die Luft ausgetrieben, und b) in solche, bei denen die Luft durch andere Gase ersetzt wird. Das Verdrängen der Luft kann durch Auskochen geschehen; dann muss es möglich sein, nach der Abkühlung die Impfung derart auszuführen, dass beim Impfen keine Luft eindringen kann. Oder die Impfung der Lösungen mit Gelatinereinkultur oder Ein-Zell-Kultur erfolgt vor dem Verdrängen der Luft; dann muss das Austreiben der Luft bei einer Temperatur vorgenommen werden, welche auf die Bakterien nicht schädigend wirken kann. Vortheilhaft ist es schon im ersten, nothwendig im zweiten Falle, dass die zu impfenden Lösungen vorher sicher sterilisirt sind.

Die einfachste, zur Orientirung und zu Massenkulturen ausreichende Versuchsanordnung besteht darin, dass man ein Kölbchen, a in Fig. 30, mit langem Halse zur Hälfte mit dem noch unreinen, auf Anwesenheit von anaerobiotischen Organismen zu prüfenden Bakteriengemische oder mit der sterilisirten und geimpften Lösung füllt. Dann zieht man den Hals bei b an der Gaslampe eng aus und verbindet das offene Ende c mit einem Aspirator oder einer Luftpumpe. Während des Verdünnens der Luft kommt das Kölbchen a in ein Wasserbad von 38 bis 40°, in dem es unter heftigem Sieden ca. ½ Stunde bleibt. Dann wird während des Saugens der Hals bei b mit einer spitzen Flamme zugeschmolzen.

Fig. 30.



Man erhält auf diese Weise ganz luftleere Wasserhammer, welche kräftig an die Wand anschlagen, und in denen die Flüssigkeit durch Körperwärme zum Sieden kommt. Je nach dem Material werden diese Kölbchen bei Zimmer- oder Brüttemperatur gehalten.

Nach Nencki[2]) kann man in folgender Weise verfahren, Fig 31. Das Gefäss wird bis zur Höhe a mit dem Bakteriengemische oder

[1]) Ueber Spaltpilzgährungen IX. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, XVII. Bd., 1884, S. 1188.

[2]) Beiträge zur Biologie der Spaltpilze 1880.

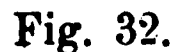
der geimpften Lösung gefüllt und darauf mit dem doppelt durchbohrten Kautschukpfropf verschlossen. Durch die eine Oeffnung dieses Pfropfs geht ein Glasstab b, welcher in einem eingeschliffenen Stöpsel endet, der gut in die Verjüngung c passt, so dass der Inhalt der Kugel A von der oberen Flüssigkeit vollständig abgeschlossen werden kann. In der zweiten Oeffnung befindet sich das rechtwinklig gebogene Rohr d, dessen Ende mit der Luftpumpe verbunden wird. Während des Saugens befindet sich die Kugel A im Wasserbade und der Glasstab b wird soweit herausgezogen, dass der Stöpsel sichungefähr bei a befindet. „Sobald die Luft entfernt ist, was man an dem stossweisen Aufkochen und Anschlagen der Flüssigkeit an die Wände des Gefässes erkennt, wird durch vorsichtiges Drehen der Glasstab hinuntergedrückt, bis durch den Stöpsel die in der Kugel A befindliche Flüssigkeit hermetisch abgeschlossen ist. Sodann wird während des Aspirirens mittelst einer spitzen Flamme bei d das Rohr zugeschmolzen und nach dem Erkalten das zugeschmolzene Ende in einer concentrirten, soeben bereiteten alkalischen Pyrogallollösung abgebrochen. Nachdem hinreichend, bis etwa zu der Höhe n Pyrogallollösung eingetreten ist, wurde das Rohr d von Neuem zugeschmolzen." Die alkalische Pyrogallollösung dient als Index für die Zuverlässigkeit des Verschlusses: „die hinzutretende Luft würde die klare, gelbbräunliche Lösung sofort dunkel gefärbt haben."

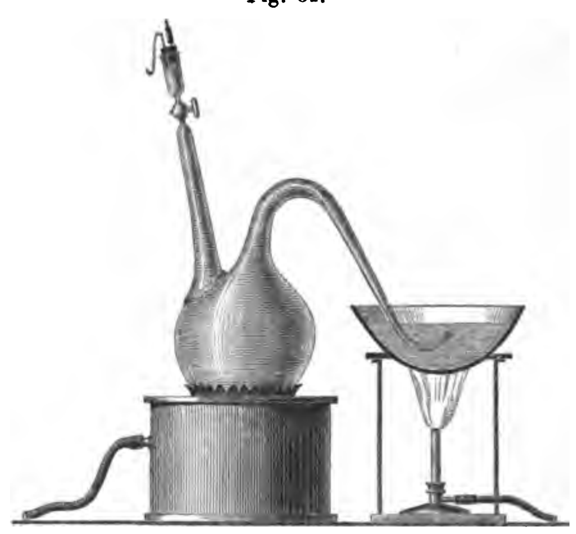
Fig. 31.

Bei diesen Versuchen ist für das Entweichen der Gase keine Fürsorge getroffen. Pasteur[1]) versuchte dies auf folgende Weise zu erreichen; Fig. 32 und Fig. 33. Ein Kolben von der Form der Fig. 32 wird mit der Lösung gefüllt, das Ableitungsrohr taucht in eine mit derselben Lösung gefüllte Porzellanschale. Die

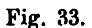
[1]) Études sur la bière 1876, S. 229 ff. Des rapports de l'oxygène avec la levure.

Flüssigkeit im Kolben und die der Porzellanschale werden gleichzeitig etwa eine halbe Stunde gekocht, um alle Luft resp. den Luft-


Fig. 32.



sauerstoff aus der Flüssigkeit zu vertreiben. Durch den sich entwickelnden Dampf wird die Flüssigkeit aus dem Ballon herausgetrieben, aber es steigt dann wieder durch Kochen luftleer gemachte Flüssigkeit aus der Porzellanschale in den Kolben zurück; dies wiederholt sich während der Dauer des Kochens einige Mal. Dann lässt man abkühlen. Während des Abkühlens habe ich es vortheilhaft gefunden, die Flüssigkeit in der Porzellanschale mit einer Schicht von vorher durch einstündiges Kochen sterilisirtem Oel zu bedecken, um eine nachträgliche Absorption von Sauerstoff möglichst zu verhindern. Nach vollständigem Abkühlen bringt man das Ableitungsrohr zum Auffangen sich bildender Gase unter sterilisirtes Quecksilber und stellt den ganzen Apparat in den Brütofen. Zur Controle wendet Pasteur


Fig. 33.

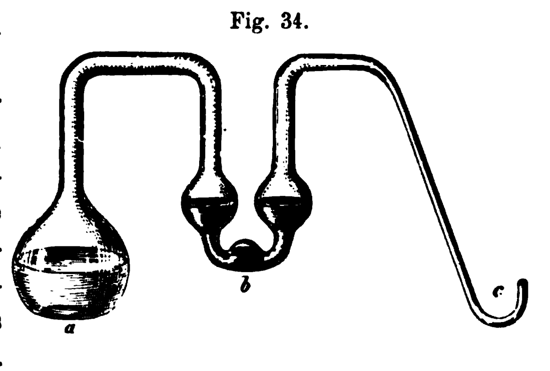


Kolben an, Fig. 33, von der doppelten Grösse, welche nur zur Hälfte gefüllt werden, so dass reichlich Sauerstoff zu Gebote steht. Zum Impfen des Kolbens, Fig. 32, kann man sich der früheren Methoden nicht bedienen. Man bringt deshalb in frischer Gährung befindliche Lösung in den Ansatz über dem Glashahn, der vorzüglich schliessen muss. Nach dem Abkühlen lässt man unter schnellem Oeffnen und Wiederschliessen des Hahns einige Tropfen der in Gährung befindlichen Lösung in den Kolben übertreten. Statt einer in Gährung befindlichen Lösung, halte ich es für besser, eine Suspension der Reinkulturen in sterilisirtem, luftfreiem, destillirtem Wasser in den kleinen Recipienten zu bringen.

Um den Stoffwechselproducten der Bakterien das Entweichen zu gestatten und jeden Kautschukverschluss zu vermeiden, wählte Nencki l. c. folgende Anordnung, Fig. 34.

Das an 3 bis 4 Stellen verjüngt ausgezogene Ableitungsrohr c taucht in die auf Anwesenheit anaerobiotischer Mikroorganismen zu prüfende oder mit Reinkulturen geimpfte, sterilisirte Flüssigkeit während gleichzeitig der Liter-Kolben a durch Erwärmen luftleer gemacht wird. In Folge dessen wird die Flüssigkeit in den Apparat aspirirt, der etwa zu $^2/_3$ des Kolbens a gefüllt wird.

Fig. 34.



Darauf wird das Ende von c mit der Luftpumpe verbunden und während der Kolben a im Wasserbade sich befindet, der ganze Apparat wie früher (Text zu Fig. 30 und 31) luftleer gemacht. Während des Saugens wird das Rohr c an einer Verjüngung zugeschmolzen. Das zugeschmolzene Ende wird darauf in reinem Kohlensäure- oder Stickstoffgas abgebrochen und dadurch der Apparat mit diesem Gase gefüllt und das Ende c von Neuem zugeschmolzen. Das zugeschmolzene Ende wird dann wiederum in alkalischer, concentrirter Pyrogallollösung abgebrochen, durch Er-

wärmen des Apparats ein Theil des Gases herausgetrieben, bis die beiden Kugeln des U-förmigen Rohres b etwa zur Hälfte mit der Pyrogallollösung gefüllt sind. Dann lässt man das Ende von c in Quecksilber tauchen und bringt den ganzen Apparat in einen Thermostaten.

Gunning[1]) hatte den früher gewählten Versuchsanordnungen gegenüber geltend gemacht, dass die gebräuchlichen Abschlüsse gegen die Luft, wie Glashähne, Quecksilber, Pyrogallollösung, keine volle Sicherheit bieten, da er durch das nach seiner Ansicht empfindlichste Reagens auf Sauerstoff, das weisse Ferroferrocyanür, die Anwesenheit von Sauerstoff glaubte nachweisen zu können.

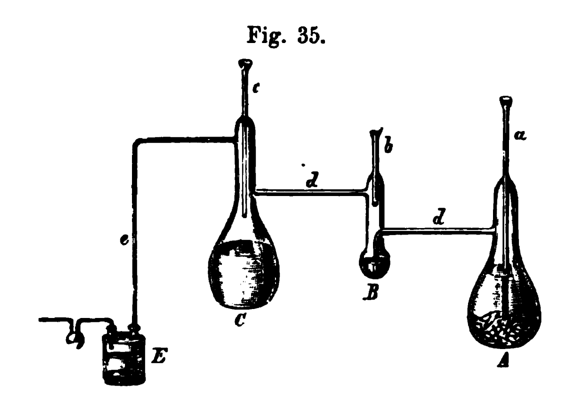
Nencki und Lachowicz[2]) wählten deshalb folgende Versuchsanordnung, Fig. 35. Der Apparat besteht aus zwei Kölbchen, A und C, von ca. 250 ccm und einem Kölbchen B von etwa 50 ccm Inhalt.

Das Kölbchen A dient zur Entwickelung von Wasserstoff aus Eisen und Schwefelsäure und zur Bildung von eisenoxydfreiem schwefelsaurem Eisenoxydulsalz; vor Einschmelzen des Trichterröhrchens a werden deshalb mehrere Rollen Klavierdraht in A eingebracht. B dient zur Aufnahme von ca. 10 ccm Blutlaugensalzlösung und zur Entwickelung des weissen Ferroferrocyanür. C enthält die Nährlösung. Die Kolben werden sorgfältig gereinigt oder besser noch sterilisirt und durch Hitze getrocknet und dann bei d zusammengeschmolzen. Darauf wird A zu $^2/_3$ mit destillirtem Wasser gefüllt, mit einigen Tropfen concentrirter Schwefelsäure angesäuert und zum Kochen erhitzt. Während des Siedens ist durch Schrägstellung des Apparates Sorge zu tragen, dass die im Röhrchen d zwischen A und B condensirten Dämpfe in den Kolben A zurückfliessen, weil sonst mit den Wasserdämpfen Eisenoxydtheilchen in das Kölbchen B hineingerissen werden können. „Hat das Wasser einige Minuten gekocht, so lässt man es auf 60 bis 50° erkalten und giesst durch das Trichterröhrchen a von Zeit zu Zeit in kleinen Portionen gut ausgekochte etwa 30 bis 40% ige Schwefelsäure ein,

[1]) Journal f. pract. Chemie, N. F., Bd. XX, 1879, S. 434.
[2]) Die Anaerobiosefrage. Archiv f. d. ges. Physiologie, Bd. XXXIII, 1883.

wodurch ein gleichmässiger, rascher und viele Stunden andauernder Strom von Wasserstoffgas erzeugt wird. Jetzt werden einige frisch auskrystallisirte Krystalle von Ferrocyankalium in ausgekochtem Wasser gelöst und einige Cubikcentimeter davon durch das Trichterröhrchen b in das Kölbchen B hineingegossen. Während Wasserstoff etwa eine Viertelstunde lang durch die Ferrocyankaliumlösung streicht, wird der Kolben C mit der (sterilisirten) Nährlösung zu etwa $^2/_3$ des Inhalts gefüllt und sodann das Kölbchen B bei b zugeschmolzen. Jetzt wird die Flüssigkeit in dem Kolben C 10 bis 15 Minuten lang im Sieden erhalten, hierauf die Flamme entfernt und noch, während die Flüssigkeit kocht, das Ableitungsrohr e mittelst des in dem Gefässe E befindlichen Quecksilbers abgesperrt." Das Quecksilber ist mit einer Schicht von alkalischer Pyrogallollösung und diese mit einer Schicht Oel oder anderer in Wasser unlöslichen Flüssigkeit bedeckt. Das Trichterröhrchen c wird nun mit einem Wachspfropf verschlossen, damit das Wasserstoffgas durch den Quecksilberverschluss in E entweicht und so alle Luft aus diesem Theile des Apparates verdrängt. Wenn die Nährlösung in C auf ca. 30° abgekühlt ist, lüftet man den Wachspfropf und inficirt die Nährlösung mit einigen Tropfen des zu prüfenden Bakteriengemischs oder der in sterilisirtem Wasser suspendirten Reinkultur, trocknet den Hals bei c mit Löschpapier und schmilzt zu. Um auch das Röhrchen a mit Wasserstoffgas zu füllen, bringt man in dasselbe etwas Eisendraht und schmilzt auch dieses Röhrchen bei a zu. Jetzt ist im ganzen Apparate die Luft durch Wasserstoffgas ersetzt. „Auf diese Weise geschieht die ganze Beschickung des Apparates im Wasserstoffstrome und die Entwickelung des Gases dauert noch einige Stunden nachdem alle Eingussröhrchen zugeschmolzen sind.

Fig. 35.



Durch Neigung des Apparates wird dann etwas von der Eisenoxydullösung aus A in B hineingezogen. Der jetzt entstandene Niederschlag von Ferroferrocyanür (Fe_2 [$Fe Cy_6$]) ist vollkommen weiss und ändert auch nach längerem Stehen seine Farbe nicht."

Da die Frage der Anaerobiose noch keineswegs nach allen Richtungen hin erledigt ist, kann zum Anhalt über die Richtung der Forschung dienen, dass, während Pasteur, Brefeld, Nencki und die meisten Forscher die Anaerobiose als erwiesene Thatsache ansehen, Gunning dieselbe ganz leugnet und als Phantasie bezeichnet. Es ist bei den Versuchen deshalb in erster Linie erforderlich, dass nicht einfache Hydrobiose als Anaerobiose angesehen wird, sondern besondere Versuche ad hoc unternommen werden. Wenn die Anaerobiose direct und durch vergleichende Versuche erwiesen ist, ist zu ermitteln, ob dieselbe die Ursache der Zersetzung ist (Pasteur) oder ob dieselbe für den Verlauf der Zersetzung eine mehr nebensächliche Bedeutung hat, wie mir die ganze Frage unter Anerkennung der Thatsache der Anaerobiose deshalb zu liegen scheint, [1]) weil fast alle bis jetzt bekannten und genauer untersuchten, der Anaerobiose fähigen Mikroorganismen, Bakterien, Hefen, einige Schimmelpilze, bei sonst durchaus gleich günstigen Bedingungen ihre Wirkungen intensiver ausüben, wenn ihnen Luftsauerstoff, wenn auch im beschränkten Maasse, zugeführt wird, als wenn sie nur auf den chemisch gebundenen Sauerstoff von Kohlehydraten angewiesen sind.

B. Parasitische Bakterien.

Durch die Uebertragungen von Reinkulturen auf empfängliche Thiere (cfr. Infectionsmethode S. 147) wird direct der Nachweis geführt, dass die bei einem Krankheitsprocesse vorkommenden Mikroorganismen wirklich die conditio sine qua non der betreffenden Infectionskrankheit sind. Die indirecten Methoden zur Erforschung der Aetiologie, auch die experimentell arbeitende localistische For-

---

[1]) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, Bd. II, 1884, S. 345, und Ueber die Zersetzungen der Milch und die biologischen Grundlagen der Gährungsphysiologie. Deutsche med. Wochenschrift 1883, No. 48 bis 50.

schung, kommen alle nur bis zu diesem Punkte. Hier ist vorläufig ihren Methoden ein Ziel gesetzt. Auch die mit grossen Zahlen arbeitende Statistik muss hier Halt machen, ganz abgesehen davon, dass bei der Verwerthung auch grosser Zahlen der Werth der Schlüsse sehr davon abhängt wie die Zahlen gewonnen wurden, so dass dasselbe Zahlenmaterial wiederholt schon mit derselben Entschiedenheit bald für Grundwassertheorie, bald für Trinkwassertheorie, bald zur Erklärung einer Krankheit als contagiöser Natur, bald als Bodenkrankheit herangezogen worden ist.

Es würde nichts Verkehrteres geben als die Bedeutung der auf das Studium der Hilfsursachen gerichteten ätiologischen Forschung, welche gerade für das praktische Handeln bei Versagen anderer Angriffspunkte oft brauchbare Anhaltspunkte giebt, herabzusetzen. Aber ebenso unrichtig ist es die Ergebnisse dieser Richtung als die allein maassgebenden hinzustellen und das Thierexperiment als nichts beweisend für die natürliche Art der Infection anzusehen. Es dürfte gut sein, wenn man sich auch hin und wieder einmal der oft recht grossen Schwächen der Methoden erinnert, mit denen die indirecte Forschung in der Aetiologie arbeiten muss, bei denen die Sicherheit der daraus gezogenen Schlüsse oft recht grell contrastirt mit der Unsicherheit des Beobachtungsmaterials.

Aber auch bei den Thierexperimenten hat man sich vor Einseitigkeiten zu hüten. Der Experimentator, welcher im Besitze empfänglicher Thiere das Experiment vollständig beherrscht, verfällt leicht in den Fehler zu einseitig contagionistisch zu denken und aus seinen directen Erfolgen für den natürlichen Infectionsmodus zu viel zu schliessen.

Die Aufgabe des Thierexperimentes ist aber in Wirklichkeit eine zweifache, wobei allerdings eine strenge Scheidung kaum durchführbar ist. Einmal ist überhaupt durch directe Uebertragungsversuche zu ermitteln ob eine Bakterienart pathogen ist oder nicht, ob sie die Ursache einer Krankheit oder ein zufälliger Begleiter ist. Durch diese Versuche ist gleichzeitig zu ermitteln ob die Bakterien bei der künstlichen Infection sich ebenso wie bei der spontanen Erkrankung im Körper in einer Verbreitung und Anordnung vorfinden, welche

alle klinischen Symptome und pathologischen Befunde zwanglos erklärt. Zweitens ist zu versuchen den Modus der Infection möglichst zu erreichen, den wir aus klinischen, pathologisch-anatomischen und allgemein epidemiologischen Ermittelungen als den Modus der natürlichen Infection bei spontanem Eintritt einer epidemischen Krankheit annehmen. Man kann folgende Methoden zur Infection anwenden.

Die Inhalationsversuche

stellt man derart an, dass man die Thiere in einen geräumigen Kasten bringt, dessen Luft Organismen beigemengt werden. Dies geschieht durch einen Dampfzerstäubungs-Apparat, oder weniger bequem durch einen Hand-Spray. Man lässt entweder den Apparat kürzere Zeit, 20 Minuten bis 1 Stunde, wirken und verwendet dann eine stärkere Suspension von Reinkulturen in sterilisirtem Wasser, oder man lässt die Zerstäubung länger andauern und vertheilt dann die Bakterien in entsprechend grösseren Wassermengen. Zur Vermeidung von Gefahren hat sich der Operateur in einer grösseren Entfernung zu halten durch Einschaltung eines längeren Gummischlauches, event. unter Verwendung einer durch mehrfache Lagen Filtrirpapier gebildeten Maske vor Mund und Nase.

Kann man das Thier in einem engen Raume, einer Röhre z. B. so unterbringen, dass es sich nicht wenden kann, so dirigirt man die zerstäubten Massen direct gegen das Maul des Thieres. Zum Inhaliren von trockenen Pilzsporen durch Tauben brachte Schütz[1]) die trockenen gepulverten Sporen auf den Boden eines Glases, in dem eine Taube bequem stehen konnte, vertheilte die Sporen durch wiederholtes Schütteln in der Luft des Glases, welches durch Watte nach aussen abgeschlossen worden war.

Da bei der natürlichen Infection durch die Athmung die Dauerkeime wahrscheinlich eine grosse Rolle spielen, wird hierauf in den Experimenten Rücksicht zu nehmen sein, und manche der Differenzen

---

1) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte 1884, Bd. II, S. 217.

über Erfolg und Nichterfolg bei der Inhalationstuberkulose durch tuberkulöse Sputa sind wohl hierauf mit zurückzuführen. Nach Veraguth[1]) verreibt man 10 gr eitriges tuberkulöses Sputum mit der 50fachen Menge Wasser, filtrirt diese Suspension zur Entfernung von Beimengungen, welche an und für sich eine mechanische oder chemische Reizung des Lungengewebes verursachen könnten, durch zwei dichte Flanelllappen oder nach Weichselbaum[2]) durch entfettete Baumwolle.

Bei Inhalation durch Trachealfisteln ist auf die Möglichkeit der gleichzeitigen Infection von der Wunde aus zu achten.

Will man sehen, welche Wirkungen Bakterien ausüben, welche auf irgend eine Weise in die Trachea gelangt sind, so kann man nach Küssner[3]) unter antiseptischen Cautelen die Trachea durch einen kleinen Schnitt freilegen und das Material durch eine feine Oeffnung mittelst einer Spritze in die Trachea bringen.

Aufnahme mit der Nahrung; Fütterungsversuche.

Bei der künstlichen Infection durch Fütterung muss man ausschliessen, dass durch rauhes, stachliges Futter möglicherweise Verletzungen der Schleimhäute eintreten können. Eine Infection von einer derartigen verletzten Stelle aus ist als eine Wundinfection in ihrem ganzen Effecte sowohl als in der Bedeutung für die Aetiologie des spontanen Entstehens anders aufzufassen als die Aufnahme von Infectionsmaterial durch die Nahrung ohne Verletzung der Schleimhäute.

Nach Koch, Gaffky, Löffler[4]) erreicht man, wenn man keine besondere Rücksicht auf die Reaction des Magensaftes nimmt, wenigstens bei grösseren Thieren, den Zweck am sichersten, wenn man von kleinen frischen Kartoffelwürfeln eine dünne Schicht so weit abspaltet, dass man sie deckelartig aufklappen kann. Dann höhlt man

---

[1]) Experimentelle Untersuchungen über Inhalations-Tuberkulose. Arch. f. experim. Pathologie 1883, Bd. 17.

[2]) Wiener med. Jahrbücher 1883.

[3]) Beitrag zur Impftuberkulose. Deutsche med. Wochenschrift 1883, Nr. 36.

[4]) Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1884, Bd. II, S. 166.

das Innere aus und füllt es mit dem rein kultivirten Bakterienmaterial, klappt den Deckel zu und bringt das präparirte Kartoffelstück auf die hintere Parthie der Zunge, so dass es ungekaut verschluckt werden muss. Kleine Würfel von hartgekochtem Eiweis etc. kann man ebenso präpariren. Das Bakterienmaterial kommt dann bei Ausschluss jeder Verletzung der Schleimhäute in den Magen. Die bisherigen Versuche lehren, dass frische, sporenfreie Bakterien in der Regel durch die Säure des Magensaftes vernichtet werden und nicht inficiren. Man muss desshalb die Versuche mit sporenfreiem und sporenhaltigem Material anstellen. Kleine Thiere, wie Ratten, Mäuse, kann man einigermassen sicher zur Aufnahme einer bestimmten Nahrung nur zwingen, wenn man sie vorher etwa 24 Stunden hungern lässt; man giebt ihnen dann die Bakterien in einer Lieblingsnahrung, z. B. kleinen Stückchen von süssen, gelben Rüben, eingeschlossen.

Da nach den bisherigen Erfahrungen eine Begünstigung der Infection durch alle die Momente erwartet werden kann, welche der Säurebildung im Magen direct oder indidirect entgegenwirken oder dieselbe umgehen, kann man versuchen bei Bakterien, welche keine endogenen Sporen bilden, oder sich nicht im Sporenzustande befinden, der hemmenden Wirkung des Magensaftes dadurch zu begegnen, dass man nach Nicati und Rietsch[1]) die Bakterien direct in das Duodenum injicirt. Diese Operation wird unter antiseptischen Cautelen mit sterilisirten und wieder abgekühlten Instrumenten, mit im Dampfe sterilisirter Watte und Seide ausgeführt. Das aufgebundene Thier wird mit einem Bogen durch Dampf sterilisirten Gummipapiers bedeckt, welches nur über der Operationsstelle eine Oeffnung hat. Die in dieser Oeffnung zu Tage liegende, in genügender Ausdehnung von den Haaren befreite und abgeseifte Bauchhaut wird mit 1% Sublimatlösung gründlich abgewaschen, dann wird das Sublimat durch sterilisirtes Wasser wieder entfernt. Der Schnitt wird unter Verwendung eines Aetherspray in der linea alba etwas unterhalb des proc. xiphoideus ange-

---

[1]) Semaine méd. 1884, No. 38. Vergl. auch Deneke, deutsche med. Wochenschrift 1885, No. 3.

legt. Nach Eröffnung des Peritoneum findet man schnell das Pylorusende des Magens, verfolgt dasselbe dem Netze entlang bis zum Duodenum. Dieses wird dann mit Pincette fixirt und in der Längsrichtung desselben die von Koch modificirte, sterilisirte Pravaz'sche Spritze eingestochen und der Inhalt so injicirt, dass nichts in die Bauchhöhle gelangt. Ueber die Herrichtung der Spritze cfr. subcutane Injection. Dann wird das Duodenum in die Bauchhöhle reponirt, die Wunde durch dichte Nähte vereinigt und Jodoform eingestreut. Ein weiterer Verband ist überflüssig.

Da nach Ewald Wasser, welches mit Schlundsonde in den nüchternen Magen eingeführt wird, neutrale und selbst schwach alkalische Reaction annimmt und vor dem Auftreten saurer Reaction fast vollständig in etwa $1^1/_2$ Stunde in den Dünndarm gelangt, kann man die Versuchsthiere vor dem Verfüttern des sporenfreien Materials 24 Stunden hungern lassen und bringt bei grösseren Thieren die in sterilisirtem Wasser suspendirten Reinkulturen mit Schlundsonden direct in den nüchternen Magen; bei kleineren Thieren ist man auf den schlechten Willen derselben angewiesen und ein vorausgegangenes Hungern das einzige Mittel, um die Thiere ziemlich sicher zur Aufnahme der vorgesetzten Flüssigkeit zu bringen.

Da eine spontane Infection nicht nur durch die mit der festen Nahrung aufgenommenen Bakterien möglich ist, sondern auch durch die flüssige Nahrung, wie Wasser, Milch, so wird man in manchen Fällen die Reinkulturen in sterilisirtes Wasser oder Milch einbringen, die längere Zeit als Getränk dienen, ohne jedesmal vorausgehendes Hungern.

Als feststehend kann man annehmen, dass Magendarmcatarrhe eine Infection vom Verdauungsapparate begünstigen, wahrscheinlich weil sie die Säurewirkung des Magens paralysiren. Man kann deshalb versuchen durch drastica einen Magendarmkatarrh hervorzurufen oder noch besser man hebt die Säurewirkung direct für einige Zeit auf. Dies erreichte Koch[2]) in folgender Weise, welche zu-

[2]) Conferenz zur Erörterung der Cholera-Frage; 2. Jahr. Berliner klin. Wochenschrift und deutsche med. Wochenschrift 1885, No. 37 ff. und Separatabdruck.

nächst nur für Meerschweinchen gilt und für andere Thierspecies wahrscheinlich noch einiger Modificationen bedürfen wird. Die Säurewirkung des Magens wird zuerst dadurch aufgehoben, dass dem Thier 5 ccm einer 5% Lösung von kohlensaurem Natron eingeflösst wird. Einige Zeit später (der Mageninhalt reagirt noch nach 3 Stunden alkalisch) wird die Suspension der Bakterien in Bouillon oder Wasser oder direct eine Reinkultur in Bouillon eingeführt. Dies genügt bisweilen, aber nicht immer und es wird oft nach der Infection nöthig, noch eine Nebenwirkung hervorzurufen und eine zeitweilige Erschlaffung der Darmmuskulatur und Aufhebung der Peristaltik herbeizuführen. Dies erreichte Koch am sichersten durch eine Injection von Opiumtinctur in die Bauchhöhle, wobei auf 200 gr Gewicht des Thiers 1 ccm Opiumtinctur gerechnet wurden; die sich zunächst einstellende starke Narcose geht in ca. 1 bis $1^1/_2$ Stunde vorüber; weniger sicher wie Opium wirkten Alkohol, Chloral und Morphium. Bei anderen Thieren kann vielleicht das Narcoticum direct in den Magen oder subcutan beigebracht werden.

Kuisl[1]) machte einige Angaben, dass der normale Magensaft die Bakterien schwächt, ohne sie immer zu tödten, so dass sie ohne die bis jetzt besprochenen Hilfsmittel vielleicht normaler Weise eliminirt werden, ehe sie eine Wirkung ausüben können, ohne dass man aber aus der nicht erfolgten Infection schliessen kann, dass sie im Magen auch wirklich getödtet waren. Kuisl schliesst dies daraus, dass er aus Darminhalt mit der Verdünnungsmethode in Flüssigkeiten mehr Arten und mehr Keime kultiviren konnte, als mit Gelatine- und Agar-Platten.

Die Aufnahme von Bakterien durch die **unverletzte Haut**, durch die Ausführungsgänge der Hautdrüsen, kann man nach Garrè[2]) durch Einreibung von Reinkulturen auf die vorher gereinigte Haut zu erreichen versuchen.

Experimentell besser beherrschbar als die Aufnahme durch Athmung, Nahrung und unverletzte Haut ist die Infection durch Ver-

---

1) Aerztliches Intelligenzblatt 1885, No. 36 und 37.

2) Fortschritte der Medicin 1885, No. 6.

letzungen, welche strenggenommen nur für die eigentlichen Wundinfectionskrankheiten verwerthet werden sollte. Diese Methoden haben sich wegen der Sicherheit und Brauchbarkeit zur Entscheidung vieler pathologischer Fragen ganz allgemein Eingang verschafft selbst dort, wo durch dieselben der Modus der spontanen Infection nicht genau nachgeahmt wird.

Die cutane Impfung

besteht in einer Verletzung der Oberhaut ohne Verletzung des subcutanen Gewebes, mit nachträglicher oder gleichzeitiger Application des Infectionsstoffes. Man bringt mit einem sterilirten Messer eine leichte Verletzung der vorher von den Haaren entblössten Oberhaupt an und streicht in diese flache Wunde mit einem Messer oder Platindraht eine Spur der Reinkultur oder der bakterienhaltigen Flüssigkeit ein. Statt dieses Operirens in zwei Zeiten kann man auch das Messer erst in die Reinkultur tauchen und den Schnitt gleich mit dem inficirten Messer machen.

Man wählt solche Stellen, an welchen die Thiere die Wunde nicht lecken können und welche ausserdem gestatten, den Process möglichst sichtbar zu verfolgen. Hierzu eignet sich vorzüglich das Ohr. Man macht an der inneren Fläche nicht weit von der Spitze oder an der vorderen Wurzel in die freie den Knorpelrand begrenzende Haut einen nur wenige Millimeter tiefen, nicht blutenden Schnitt. Bei Mäusen gelingt fast nur an der Ohrwurzel und auch da noch schwer genug eine rein cutane Verletzung.

Auch die Impfungen der durchsichtigen Hornhaut, welche von Nassiloff[1]) und Eberth[2]) eingeführt wurden, kann man hierher rechnen. Man macht vom Hornhautrande her einen flachen Einstich in die Hornhaut, von dem aus die Bakterien in die Hornhaut in der sternartigen Form der sogenannten Pilzfigur hineinwuchern.

---

1) Virchow's Archiv Bd. 50, S. 550.

2) Bakterische Mykosen 1872.

Auseinanderzuhalten von der ächten cutanen Impfung ist die

subcutane Application

der Bakterien. Man schneidet an einer von Haaren befreiten, gegen Lecken sicheren Stelle eine mit der Pincette erhobene Hautfalte am Grunde ein und bildet mit stumpfer Sonde oder dem Messer eine Hauttasche. In diese Hauttasche streicht man mit sterilisirtem Messer oder Platinnadel von der Reinkultur ein und drückt dann die Haut wieder fest an. Bei Mäusen operirt man nach Koch[1]) am bequemsten derart, dass man die in einem grossen verdeckten Glascylinder sitzende Maus mit einer langen Pincette am Schwanze fasst und den letzteren aus einem schmalen, für die Maus selbst nicht passirbaren Spalt zwischen Deckel und Glasrande soweit hervorzieht, dass man ihn mit der linken Hand gut fassen kann. Dann macht man mit der Scheere in die verschiebbare Haut an der Schwanzwurzel einen flachen, quer verlaufenden Einschnitt, den man mit Sonde oder stumpfem Messer zu einer Tasche erweitert, in welche man mit Platindraht oder Messer eine Spur der Reinkultur einstreicht.

Zur subcutanen Injection dient eine von Koch[2]) angegebene, modificirte Pravaz'sche Spritze, welche durch Hitze sicher sterilisirt werden kann und deshalb ohne Kautschuk hergestellt ist. Die Metallfassung ist mit dem Glascylinder durch ein in das Glas eingeschliffenes Schraubengewinde verbunden und diese Verbindung wird dicht gemacht durch ein kleines Korkplättchen, welches öfters erneuert wird. Der Stempel der Spritze wird mit Watte und Seidenfaden jedesmal frisch umwickelt, bis er fest schliesst. Die so hergerichtete Spritze wird 2 Stunden bei 150 bis 160° im Trockenschranke gehalten und gegen Staub geschützt abgekühlt. Vor dem Gebrauche wird der Stempel durch frisch sterilisirtes destillirtes Wasser angefeuchtet. Zum Injiciren dienen frisch hergestellte Suspensionen der rein kultivirten Bakterien in sterilisirtem Wasser.

---

1) Die Aetiologie der Milzbrandkrankheit. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, II. Bd., 2. Heft, 1876, S. 279.

2) Mittheilungen I. 1881, S. 17.

Von Wichtigkeit kann auch das Einbringen von Bakterien in die vordere Augenkammer werden, besonders bei Arten, welche so langsam wachsen, dass die ersten sichtbaren Effecte in der Iris sich einstellen, wenn alle Entzündungserscheinungen schon beseitigt sind. Cohnheim und Salomonsen[1]) führten diese Methode für die Tuberkulose ein. Die Technik ist fast dieselbe wie bei der Iridectomie. Die linke Hand fasst mit einer Fixirpincette eine Falte der Conjunctiva und dreht mit derselben den Augapfel nach unten, während ein Gehülfe den Kopf fixirt; bei einiger Uebung kann man die Fixirpincette entbehren. Die andere Hand sticht das schief nach Innen gerichtete Lanzenmesser dicht am oberen Rande der Hornhaut ein. Sobald die Spitze in der vorderen Kammer angelangt ist, senkt man den Stiel so, dass die Spitze gegen die Hornhaut gerichtet ist. In dieser Weise muss auch das Messer, sobald der Schnitt genügend gross ist, zurückgezogen werden, damit nicht wegen des abfliessenden Kammerwassers die nach vorn dringende Iris und Linse verletzt werden. Von in Wasser suspendirten Reinkulturen kann man einige Tropfen mit der Spritze einführen, während man kleine Partikel bakterienhaltigen Materials mit einer Irispincette einbringt.

Zu Injectionen in **Brust- und Bauchhöhle** dienen suspendirte Reinkulturen, welche mit der Koch'schen Spritze eingeführt werden.

Zur directen Injection in die Blutbahn

wird das Gefäss (meist v. jugularis oder cruralis) unter antiseptischen Cautelen blosgelegt und die Canüle der Koch'schen Spritze eingebunden wie die Haarröhrchen nach Salomonsen S. 145, aber so, dass möglichst wenig Blut ausfliesst. Die Unterbindung des verletzten Gefässes erfolgt in der gewöhnlichen Weise der Chirurgie, ebenso die Schliessung der Hautwunde. Bequemer und oft vollständig ausreichend ist es, bei Kaninchen eine directe Injection in die Ohrvene zu machen, welche bei diesen Thieren leicht zu treffen ist.

Während es im Allgemeinen bei directen Injectionen in die Blutbahn erforderlich ist, mechanische Störungen zu vermeiden und die

[1]) Sitzungsberichte der Schlesischen Gesellschaft für vaterländische Cultur vom 13. Juli 1877 und Salomonsen: Om Indpodning af Tuberkulose, särligt i Kaninens Iris. Nordiskt Medicinskt Arkiv 1879, Bd. XI, No. 12 u. 19.

Suspensionen der Reinkulturen von fremden Beimengungen zu befreien, kann es bisweilen wünschenswerth sein, etwas gröbere Partikel, kleine Stückchen von festem Nährboden, mit einzuführen, um zu sehen, ob etwa dadurch herbeigeführte mechanische Hindernisse, Thrombosen, die Localisationen der Bakterien zu beeinflussen vermögen. Bei Pilzsporen kann ein vorausgegangenes Quellen nach Ribbert[1]) die Localisation schon ändern, indem dieselben dann in Capillargebieten haften bleiben, welche sie sonst passiren. Zur Injection in Blutbahn und seröse Höhlen ist es besser, die Suspension mit einer sterilisirten indifferenten Lösung 0,6% Kochsalz zu machen und nicht mit destillirtem Wasser.

Will oder kann man keine Uebertragungen mit Reinkulturen machen, sondern will man von Thier zu Thier impfen, so bleibt die Technik dieselbe, nur hat man bei der Entnahme des Materials so sorgfältig zu verfahren, als wollte man es zur Herstellung von Blutserum-Reinkulturen benutzen.

Wenn die malignen Eigenschaften einer reinkultivirten Bakterienart festgestellt sind, ist es wünschenswerth annähernd die Minimalzahl der Bakterien zu kennen, welche eben zur sicheren Infection ausreichen. Oder bei nachgewiesener Virulenz einer infectiösen Flüssigkeit, des Blutes z. B., ist es wünschenswerth zu wissen, in welchem Grade der Verdünnung eine bestimmte Zahl Tropfen noch sicher inficirt. Aus derartigen Versuchen kann man fast unmittelbare Schlüsse für den Modus der natürlichen Infection ziehen. Bis jetzt liegen nach dieser Richtung nur ganz allgemeine Anhaltspunkte vor, welche nach Koch ergeben, dass die unbedingt zur Infection erforderliche minimale Zahl der Bakterien bei verschiedenen Infectionskrankheiten schwankt und dass dieses Minimum in Beziehungen zur Körpergrösse der Thiere steht. Nur für eine Form der Septikaemie ist diesem Postulate durch Davaine[2]), Koch[3]) und Gaffky[4]) eingehend Rechnung getragen.

---

1) Deutsche med. Wochenschrift 1885, No. 42.

2) Bulletin de l'Académie de médecine, Sitzung vom 17. Sept. 1872.

3) Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten 1878.

4) Experimentell erzeugte Septicaemie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und accomodative Züchtung. Mittheilungen a. d. Kais. Gesundheitsamte, Bd. I, 1881, S. 50.

Für die Pflanzenpathologie haben die Bakterien bis jetzt nur wenig Bedeutung gewonnen, vielleicht wegen der meist sauren Reaction der Pflanzengewebe. Reinke und Berthold[1]) gelang es, mit bakterienhaltiger Flüssigkeit aus einer nassfaulen Kartoffel gesunde Kartoffeln zu inficiren. Da die intacte Korkschicht einer gesunden Kartoffel vor der Infection schützt, muss man die Korkschicht durchtrennen. Man schneidet zu diesem Zwecke eine dreiseitige Pyramide mit scharfem Messer aus, bringt in diese Wunde ein Tröpfchen der Flüssigkeit oder eine Spur der Reinkultur und setzt das herausgeschnittene Stück wieder ein. Die geimpften Knollen kommen dann in eine feuchte Kammer. Nach Wakker[2]) ist die in Holland beobachtete sog. gelbe Krankheit der Hyacinthe durch Bakterien bedingt, welche als gelbe schleimige Masse in den Gefässen der Zwiebeln und in den Gefässen und dem Parenchym der Blätter sich finden. Der directe Nachweis, dass diese beobachteten Bakterien die Ursache der Krankheit sind, würde noch durch Uebertragung auf gesunde Pflanzen zu bringen sein.

---

[1]) Unters. aus dem botan. Laborat. in Göttingen, Heft I.

[2]) Botan. Centralblatt Bd. 14, S. 315.

V. Allgemeine biologische Aufgaben.

Nachdem durch Uebertragen der Nachweis geliefert ist, dass die bei einer Zersetzung oder Krankheit beobachteten Bakterien die Ursache dieser Vorgänge sind, muss ermittelt werden ob eine saprophytische Art nur diese eine Zersetzung oder Fermentation ausübt, oder ob sie in andern Medien anders wirkt; so bilden z. B. die Buttersäurebakterien nach Fitz aus Saccharaten Buttersäure als Hauptproduct und Spuren von Butylalkohol als Nebenproduct, während sie aus Glycerin neben Buttersäure reichlich normalen Butylalkohol und Propylglycol und Spuren von Milchsäure als Nebenproduct bilden. Es ist ferner schon ermittelt, dass verschiedene Bakterienarten scheinbar dieselbe Zersetzung hervorrufen können, insofern sie dasselbe Hauptproduct bilden. So rufen mehrere Bakterienarten in Saccharaten Buttersäuregährung hervor, während wieder mehrere andere Arten Milchsäure als Hauptproduct abspalten; es giebt mehrere Arten, welche Harnstoff zu hydratisiren vermögen. In allen diesen Fällen sind aber die quantitativen Verhältnisse der Hauptproducte verschieden, es werden verschiedene Nebenproducte gebildet und die übrigen biologischen und morphologischen Eigenschaften sind different. Weiter ist zu beachten, dass Fermentbakterien auf bestimmten Substraten characteristische Pigmente bilden, oder dass sie auf bestimmte Thiere pathogenetisch wirken können. Nach Brieger tödten z. B. bestimmte Bacillen, welche in Saccharaten Propionsäuregährung hervorrufen sollen, Meerschweinchen. Es ist demnach durch möglichst grosse Variation der Nährsubstrate und durch Uebertragungen auf verschiedene Thierspecies zu ermitteln, ob die saprophytischen Bakterien, und speciell die Ferment- und Pigmentbakterien nur eine einzige Zersetzung erregen, oder ob sie in verschiedenen Sub-

straten verschiedene Zersetzungen erregen, ob sie Pigmente bilden, oder ob sie auch parasitischer Lebensweise fähig sind.[1])

Bei parasitischen Bakterien ist zu ermitteln, ob sie nur für die eine Thierspecies maligne Eigenschaften enthalten, bei der sie spontan beobachtet wurden, oder ob sie auch für andere Thiere pathogenetisch sind. Die Beantwortung dieser Frage ist höchst wichtig zur Ermittelung der Verbreitungsmöglichkeiten einer Infectionskrankheit. Auch die Reinkulturen der infectiösen Bakterien sind auf verschiedene Substrate zu übertragen, da sie möglicherweise Substrate, auf denen sie zu leben vermögen, in einer mehr typischen Weise zersetzen können. Die Bacillen des Rotz z. B. bewirken auf einzelnen Substraten die Bildung eines braunen Pigments, die Spirochäten der Cholera asiatica bilden ein bräunliches Pigment und spalten aus Saccharaten Buttersäure ab und die Kokken der Osteomyelitis bewirken Milchsäuregährung und rufen ein gelbes Pigment hervor.

Die Herstellung der Substrate und die Uebertragung auf dieselben und auf Thiere erfolgt in der früher angegebenen Weise. Besonders ist hierbei zu achten, ob sich mit Aenderung des Substrates die Form in irgend einer Weise ändert oder neue Formen auftreten. Durch Herstellung von Reinkulturen ist jedesmal eine sorgfältige Controle der Uebertragungen zu machen, sobald irgend welche Eigenthümlichkeiten beobachtet werden.

Mit Hülfe der Reinkulturen ist zu ermitteln, ob die Bakterien ihren Stickstoffbedarf nur aus Albuminaten, ihren Kohlenstoffbedarf nur aus Zucker zu befriedigen vermögen, oder ob sie ihn einfacheren Verbindungen entnehmen können. Die Zusammensetzung solcher Lösungen und die Variation der Mineralbestandtheile erfolgt nach Kap. III, S. 111.

Vermögen die Bakterien feste Albuminate, hart-

---

1) cfr. über diese Möglichkeiten: Fitz, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1882, S. 867, 1884, S. 1188, meine Angaben in der deutschen med. Wochenschrift 1884, No. 48 bis 50, und Leube und Graser, Virchow's Archiv 1885, Bd. 100, S. 540.

gekochtes Fibrin, geronnenes Caseïn zu lösen, zu peptonisiren?

Durch Säure frisch gefälltes Caseïn wird bis zur Entfernung der sauren Reaction mit destillirtem Wasser gewaschen; ebenso wird frisch gewonnenes Fibrin gründlich ausgewaschen. Am besten macht man drei Parallelversuche, indem man in einige Reagirgläser nur ein Bröckchen Caseïn oder eine Fibrinflocke resp. einen Würfel Hühnereiweis mit destillirtem Wasser bringt; in andere Gläser kommt ein Zusatz von 0,1 % Fleischextract und in eine dritte Reihe Gläser noch ausserdem 0,5 % Traubenzucker. Die Gläser werden erst durch Dampf sicher sterilisirt und nach dem Abkühlen geeimpft und zum Theil bei Zimmer-, z. Theil bei Brütofentemperatur gehalten; eventuell ist auch auf Anaerobiose Rücksicht zu nehmen. Durch Impfungen sterilisirter Milch ist zu sehen, ob Bakterien das Caseïn durch Säurebildung zur Gerinnung bringen, oder ob sie das Caseïn labähnlich ausscheiden und das ausgeschiedene Caseïn lösen.

Durch Impfungen von Milchzucker- oder Rohrzuckerlösungen wird ermittelt, dass Bakterien Disaccharate verwerthen, wobei besonders darauf zu achten ist, ob dabei diese Disaccharate erst in die einfachen Saccharate gespalten, also hydratisirt werden. Durch Uebertragungen auf Stärkelösungen und Stärkekleister wird erkannt, dass die Bakterien Stärke lösen und in Zucker überführen oder nicht. Bei diesen Versuchen ist dem Zucker resp. der Stärke in einzelnen Gläsern nichts, in anderen 1 p. M. Fleischextract und in einer dritten Reihe 1 p. M. Fleischextract und 0,5 p. C. Pepton zuzusetzen.

Bei höheren Organismen sind alle derartigen hydrolytischen Spaltungen, wie sie durch Diastase, Pepsin, Lab u. s. w. ausgeübt werden, ziemlich sicher zurückzuführen auf chemische Fermente,

Enzyme,

welche von den dieselben producirenden Zellen getrennt werden können und dann auch ausserhalb des Organismus Hydratationen[1])

[1]) Kühne: Erfahrungen und Bemerkungen über Enzyme und Fermente. Untersuch. des physiologischen Instituts der Universität Heidelberg, Bd. I, Heft 3, 1877.

bewirken. Wenn durch Bakterien derartige Hydratationen ausgeübt werden, ist durch Versuche direct zu ermitteln, ob diese Processe von den Bakterien trennbare, ächte Enzymwirkungen sind, oder ob dieselben nicht von der lebenden Zelle isolirt werden können. Von Krukenberg wurden Hydratationen ohne trennbare Enzyme bei niederen Thieren sicher gestellt; ich vermochte die Hydratation des Milchzuckers durch die Milchsäurebacillen nicht von diesen Bakterien zu trennen und Leube gelang es nicht, ein Enzym von den Bakterien der Harnstoffgährung zu trennen.

Es liegt nicht der geringste Grund vor jede durch Bakterien ausgeübte Hydratation ohne weiteres als Wirkung eines trennbaren, isolirbaren, ächten Enzyms aufzufassen, sondern es sind hierüber nur directe Versuche entscheidend. Die Einzelheiten dieses Nachweises gehören wesentlich in das Gebiet der Chemie.[1]) Der allgemeine Gang beruht darauf, dass durch Alkohol die Enzyme mit den Albuminaten niedergerissen werden; dann werden dieselben mit Glycerin oder Wasser aufgenommen und dadurch von den Albuminaten getrennt, und diese event. wiederholt. Diese Proceduren müssen in sterilisirten Lösungen gemacht werden, welche mit Reinkulturen geimpft waren, wobei besonders auf etwaige Anwesenheit von Sporen zu achten ist. Weigert[2]) hatte schon früher gefunden, das Glycerin für diese Zwecke bisweilen im Stiche lässt, und ich fand, dass Alkohol und Glycerin[3]) zur sicheren Trennung der Enzyme nicht immer ausreichen, besonders wenn Sporen vorhanden sind.

Auch durch Filtration kann man versuchen Enzyme von der bakterienhaltigen Flüssigkeit zu trennen. Die Filtration kann man sowohl direct als in Verbindung mit den vorher angegebenen Fällungsmethoden vornehmen. Bei den Experimenten über Enzyme ist es unbedingt nöthig, durch controlirende Reinkulturen, besonders Plattenkulturen, zu ermitteln, ob nicht trotz aller Vorsicht Bakterien mit übertragen wurden.

---

[1]) cfr. A. Mayer: Die Lehre von den chemischen Fermenten 1882.

[2]) Ueber Glycerin als Unterscheidungsmittel geformter und ungeformter Fermente. Deutsche med. Wochenschrift 1877, No. 40/41.

[3]) Mittheilungen aus dem K. Gesundheitsamte, Bd. II, 1884, S. 343.

Während bei den parasitischen Bakterien im engeren Sinne die Uebertragung selbst, die Infection, geknüpft ist an die Uebertragung der Bakterien, kann die Wirkung als solche vielleicht trennbar sein dadurch, dass diese Bakterien isolirbare Enzyme oder basische, alkaloidähnliche Körper,

Ptomaine

bilden, welche die eigentliche Giftwirkung ausüben. Durch Bildung solcher giftiger Producte aus den Albuminaten können selbst Fäulnissbakterien Intoxicationen ausüben, ohne dass sie wirkliche Infectionskrankheiten bewirken. Der Nachweis derartiger Gifte erfolgt zum Theil wie bei andern Enzymen, zum Theil deckt er sich mit dem Nachweis der Alkaloide nach dem Verfahren von Stas-Otto[1]), zum Theil sind die Methoden noch auszuarbeiten, wie dies besonders von Brieger[2]) in der letzten Zeit geschehen ist.

Während ein grosser Theil der bis jetzt betrachteten biologischen Aufgaben nur von dem chemisch geschulten Forscher gelöst werden kann, restiren noch einige fundamentale Aufgaben wesentlich experimenteller Art.

Verhalten zur Temperatur.

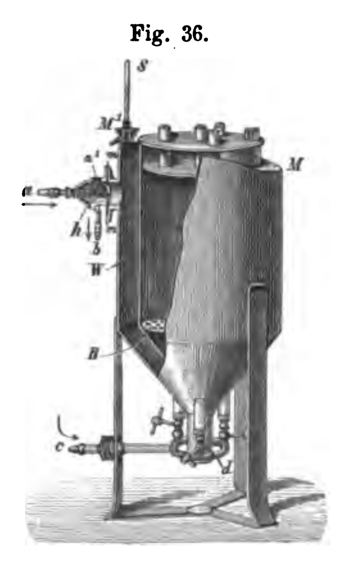
Es ist zu ermitteln, bei welcher niedersten Temperatur eine reinkultivirte Bakterienart anfängt sich zu vermehren, zu Colonien auszuwachsen. Man impft zu diesem Zwecke am besten Gelatine in Reagirgläsern und sterilisirte Lösungen mit Reinkulturen und setzt die Gläser wochenlang in den Eisschrank, dessen Temperatur im Allgemeinen nicht unter 5° sinkt und 8° nicht übersteigt. Temperaturen über 8° bis zur Zimmertemperatur erreicht man am besten in kühlen Zimmern, in Gefässen mit doppelten Wandungen, durch welche fortwährend kaltes Leitungswasser circulirt, unter Controle eines von Soxhlet für derartige Fälle angegebenen Thermoregulators. Für Temperaturen über 15° bis zur Bluttemperatur können

[1]) Otto: Anleitung zur Ausmittlung der Gifte, 4. Aufl., 1884. — Ludwig: Medicinische Chemie 1885.

[2]) Ueber Ptomaine 1885.

bei Einschaltung eines Glasdruckregulators schon die gewöhnlichen Vegetationskästen dienen. Am meisten empfiehlt sich für ganz genaue Bestimmungen der Thermostat nach d'Arsonval, Fig. 36. Derselbe besteht aus einem doppelwandigen Cylinder von starkem Kupferblech, welcher unten in der doppelwandigen conischen Heizfläche endigt. Der geneigte Abschluss des Cylinders von M^1 nach M gestattet die Beseitigung aller Luft und vollständige Füllung des ganzen Mantels W mit Wasser. Man füllt den Mantel mit destillirtem oder Regenwasser von einer der gewünschten annähernd gleichen Temperatur vollständig bis M^1, setzt dann die Steigröhre S auf, in der das Wasser eine bestimmte Höhe einnimmt. Das durch einen Druckregulator von dem Druck in der übrigen Leitung unabhängige Gas strömt bei a ein, tritt durch die Oeffnung a^1 in die kleine Kammer h, von hier bei b wieder aus und gelangt von b durch eine Rohrverbindung nach c und dann zu den Flammen d. Diese werden durch einen Mantel von Marienglas gegen Zug geschützt und können als Stichflammen nicht zurückschlagen. Zwischen dem Raume h und dem Wassermantel W ist ein Schlösing'scher Membran-Regulator m—m eingespannt. Bei Temperaturschwankungen des im Wassermantel W sich befindenden Wassers macht sich die Zusammenziehung oder Ausdehnung der grossen Wassermenge in der engen Steigröhre durch relativ starkes Fallen oder Steigen bemerkbar. Dadurch ändert sich aber der auf dem Wasser lastende Druck relativ stark und die Kautschukmembran m—m wird entsprechend bald mehr nach dem Wasser vorgebaucht, bald der Ausströmungsöffnung des Gases, a^1, fester aufgedrückt. Es strömt dementsprechend bald mehr Gas durch a^1 in den Raum h ein, bald weniger, und in Folge dessen brennen die Flammen bald stärker resp. schwächer bis die Temperatur wieder erreicht ist, auf welche der Apparat eingestellt war. Die Regu-

Fig. 36.



lirung ist auf Zehntel eines Grades innerhalb mehrerer Wochen genau, wenn der Stand des Wassers in der Steigröhre täglich controlirt und durch Nachfüllen einiger Tropfen destillirten Wassers oder Wegnahme einiger Tropfen regulirt wird, wenn der Gasdruck unabhängig ist vom Gasdruck der Hausleitung, und der Raum, in dem der Apparat steht, eine gleichmässige Temperatur besitzt. Bei grösseren Temperaturschwankungen des Raumes ist es nöthig, den Apparat noch mit einem Asbestmantel zu umgeben. Bei kleinen Thermostaten in Kasten- oder Cylinderform, erreicht man bei guter Isolirung schon mit Quecksilberregulatoren eine ausserordentlich genaue Einstellung der Temperatur, wenn das Quecksilbergefäss sehr gross ist, wie bei dem sog. Freiburger Thermoregulator, und der Gasdruck durch einen Druckregulator regulirt ist.

Mit Hülfe eines Thermostaten ist das Temperatur-Optimum zu ermitteln, d. h. diejenige Temperatur, bei welcher die Bakterien sich am intensivsten vermehren und wirken. Man impft zu diesem Zwecke Nährgelatine resp. Agar-Agar oder festes Blutserum mit den Reinkulturen und ermittelt die Zeit, innerhalb welcher deutliche, characteristische Colonien sich bilden. Dann impft man sterilisirte Nährlösungen in Reagirgläsern und Erlenmeyer'schen Kölbchen mit den Reinkulturen und ermittelt durch von Zeit zu Zeit vorgenommene Prüfungen, bei welcher Temperatur das Maximum der Wirkung, z. B, ein bestimmter Säuregrad in kürzester Zeit erreicht wird. Das Optimum der Temperatur für Vermehrung und Wirkung schwankt bisweilen nur innerhalb weniger Grade, zeigt oft aber auch eine grosse Breite. Jenseits des Optimums folgt wieder eine Abnahme der Wachsthums- und der Wirkungsintensität. Zur Ermittlung dieser Grenze impft man die Reinkulturen sowohl in feste Medien, als in zusagende Flüssigkeiten. So ermittelte ich z. B., dass die Vermehrung und Wirkung der Milchsäurebakterien zwischen 45,3 und 45,5 ° C. in Milch und 3 bis 4 % igen Zuckerlösungen aufhört, ohne dass aber eine Tödtung der Bakterien erfolgte. Diese Grenze bezeichnet zunächst nur eine Entwicklungshemmung, eine Art Wärmestarre, oberhalb der erst die eigentliche Vernichtung der Bakterien erfolgt.

Nachdem im Februar 1880 Pasteur die Entdeckung mitge-

theilt hatte, dass durch biologische Eingriffe die Mikrokokken der Hühnercholera in ihrer Virulenz abgeschwächt werden, und dass Impfungen mit diesen abgeschwächten Bakterien die Thiere gegen Impfungen mit virulentem Material schützen, ermittelte Toussaint, dass man virulentes Milzbrandblut durch 10 Minuten langes Erwärmen auf 55° oder durch Zusatz von Carbolsäure in seiner Virulenz herabsetzen kann, und Pasteur fand bald darauf, dass man durch Kultiviren der reinen Milzbrandbacillen in Bouillon bei 42 bis 43° die Virulenz dieser Bakterien systematisch herabzusetzen vermag. A. Chauveau[1]) ermittelte dann, dass bei 52° 15 Minuten, bei 50° 20 Minuten, bei 47° 3 bis 4 Stunden, bei 43° etwa 6 und bei 42° fasst 20 Tage zum selben Grade der Abschwächung erforderlich sind, dass aber die Sicherheit und die Constanz der Abschwächung um so grösser ist, je niedriger die Temperatur ist. Koch, Gaffky und Löffler[2]) präcisirten diese Ermittelungen noch genauer für die Temperaturen zwischen 42 und 43°.

Derartige feine Abstufungen der Temperatur sind nur mit einem vorzüglichen Thermostaten zu erreichen. In ähnlicher Weise ist zu ermitteln, bei welchen unteren und oberen Temperaturen sich Sporen bilden und unter- und oberhalb welchen Temperaturen keine Sporen gebildet werden. Innerhalb dieser Grenzen ist das Optimum der Temperatur für die Sporenbildung dadurch zu ermitteln, dass man die Menge der Sporen, die Regelmässigkeit ihrer Bildung in den Kulturen beobachtet und die Zeit feststellt, zu der sich die ersten Sporen finden. Auch die zum Auskeimen erforderliche Zeit ist unter verschiedenen Temperaturverhältnissen zu ermitteln.

Diese Ermittelungen über die niedrigste Temperatur, bei welcher eine Bakterienart eben noch sich vermehren kann; über die Höhe und Breite des Temperatur-Optimums und über die obere Temperatur, bei welcher eine Art nicht mehr wirkt; ferner die Beobachtungen über die unteren und oberen Temperaturen, bei denen keine Sporenbildung mehr eintritt, und die Ermittelungen über das Op-

---

1) Comptes rendus. T. 96, 1883, No. 9, 10 und 11.

2) Mittheilungen aus dem K. Gesundheitsamte, Bd. II, 1884, S. 147.

timum zur Sporenbildung und die zur Sporenauskeimung erforderliche Temperatur gestatten fast allein schon den Grad der Anpassung an die parasitische Lebensweise richtig zu beurtheilen.

Wenn man bei den Reinkulturen die Schwierigkeit oder Leichtigkeit der Herstellung berücksichtigt, wenn man beachtet, ob die rein kultivirten Bakterien in Betreff ihres Stickstoff- und Kohlenstoffbedarfes wählerisch sind oder nicht, wenn man die geschilderten Temperaturverhältnisse eingehend prüft, dann wird die Reinkultur zu einem epidemiologischen Experimente unter reinen Bedingungen. Der Experimentator kann sich durch diese Ermittelungen gegen einseitige contagionistische Deutungen des Thierexperimentes ganz direct schützen und unbefangen an die Beurtheilung der örtlich-zeitlichen Hülfsursachen für das Entstehen von En- und Epidemien herantreten.

Um die Temperatur genauer festzustellen, bei welcher Sporen getödtet werden, wendet man am bequemsten ein recht tiefes Wasserbad mit constantem Niveau an; S. 10. Das Wasser des Bades muss höher stehen als das Niveau der Flüssigkeit in den Gläsern, in denen die Temperatur etwas niedriger bleibt wie im Wasserbade, so dass die ermittelten Zahlen nicht genau den wirklich in den Gläsern erreichten Temperaturen entsprechen. Wenn der Temperaturausgleich angenommen werden kann, nach ca. $^1/_2$ Stunde werden die Gläser unter schnellem Oeffnen mit den Sporen geimpft und wiederholt hin und her bewegt. Man lässt die Gläser bei verschiedenen Temperaturen, z. B. Siedetemperatur, 95°, 90° bis 70° verschieden lange Zeit, bringt dann einige Gläser in das Temperaturoptimum der betreffenden Art, um durch Auftreten oder Ausbleiben von Trübungen auf die Tödtung zu schliessen. Den Inhalt anderer Gläser kann man mit Gelatine mischen und zu Plattenkulturen verwenden. Zum Studium der Temperatur über 100° bedient man sich für diese Ermittelungen am besten der Salz- oder Oelbäder.

Auch die Sporen können vor der Tödtung eine Abschwächung erfahren, was durch Uebertragungen auf zusagende Lösungen oder Thiere festzustellen ist.

Um den Einfluss trockener Hitze zu ermitteln, tränkt man kurze Stückchen Seidenfäden mit einer sporenfreien und andere mit sporenhaltiger Bakterienflüssigkeit, indem man die Fäden in eine Aufschwemmung der entsprechenden Reinkulturen in destillirtem Wasser einlegt, oder in das frische bakterienhaltige Blut oder den Gewebssaft einbringt. Dann trocknet man die Fäden im Exsicator, legt sie in Uhrgläser und setzt sie im Trockenschranke verschieden hohen Temperaturen direct aus.

Je nach der Art der Einwirkung der Temperaturen kann sich, wie erwähnt, eine einfache Entwickelungshemmung, oder eine Abschwächung der Virulenz, oder endlich eine Vernichtung der Bakterien bemerkbar machen.

Ausser der Temperatur wirken viele Mittel, je nach der Concentration, entwickelungshemmend, antiseptisch, oder abschwächend, oder tödtend, desinficirend[1]). Die Versuche über

Desinfection mit Flüssigkeiten

stellt man derart an, dass man Uhrgläser, Krystallisationsschalen oder Reagirgläser mit einer Lösung des zu prüfenden Mittels in verschiedenen Concentrationsgraden füllt und in einzelne imprägnirte Seidenfäden mit, in andere Fäden ohne Sporen einbringt.

Nach verschieden langer Einwirkung nimmt man die Fäden mit sterilisirter Pipette aus den Lösungen, spült sie mit sterilisirtem Wasser ab und bringt 3 bis 4 Fäden in zähflüssige auf Objectträger aufgetragene Nährgelatine resp. andere erprobte Nährmedien. Zur Controle bringt man Fäden in Gelatine, welche gar nicht weiter behandelt wurden, und andere, welche nur mit sterilisirtem Wasser abgespült waren. Die Differenzen in der Zeit der Entwickelung oder das gänzliche Ausbleiben kann man dann direct beobachten. Eine weitere Controle ist erforderlich dadurch, dass man Thieren solche Seidenfäden unter die Haut bringt. Carbolsäure tödtete z. B. die Milzbrandbacillen in 1 % iger Lösung in 2 Minuten, während Milzbrandsporen erst durch eine 3 % ige Lösung und erst

[1]) Koch: Ueber Desinfection. Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1881, Bd. I., S. 234.

in 7 Tagen vernichtet wurden. Die Entwickelung der Milzbrandsporen wurde durch eine 2 % ige Lösung in 3 Tagen gehemmt.

Chamberland und Roux[1]) ermittelten den abschwächenden Einfluss der Carbolsäure, indem sie zu neutralisirter Kalbsbouillon, welche mit Milzbrandbacillen versetzt war, bestimmte Mengen des Mittels hinzufügten; $^1/_{400}$ Carbolsäure hielt die Entwickelung auf und tödtete die Bacillen in 48 Stunden, $^1/_{500}$ tödtete erst nach 5 Monaten, $^1/_{600}$ tödtete erst nach 6 Monaten. Bei $^1/_{600}$ tödteten die Bacillen nach 12 Tagen nur noch Meerschweinchen und Kaninchen (u. Mäuse) und waren nach 29 Tagen unwirksam, Zusätze bis zu $^1/_{800}$ hoben die Sporenbildung auf, welche erst bei $^1/_{1200}$ wieder eintrat. Derartige Versuche lassen sich auch in Nährgelatine machen; man fügt zu der verflüssigten Nährgelatine oder dem Agar die gewünschte Menge des zu prüfenden Mittels, impft diese Gläser nach dem Erstarren der Gelatine stichförmig und kann dann direct den Erfolg sehen. Zur Controle impft man andere Gläser mit Nährgelatine ohne jeden weiteren Zusatz, welche dann einen schnellen Vergleich gestatten. Dieses Verfahren empfiehlt sich besonders zur Orientirung und zu Demonstrationszwecken.

Zu Laboratoriums-Versuchen über

die Desinfection mit Gasen

empfiehlt sich folgende Versuchsanordnung nach Fischer und Proskauer[2]). Ein dickwandiger Glasballon, AA, von ca. 20 l Rauminhalt, Fig. 37, wird mit einer starken Kappe, aa, von vulcanisirtem Kautschuk verschlossen, deren Rand durch eine Schnur straff an den Flaschenhals angedrückt wird. In der Kappe findet sich central eine grössere und rings um diese noch einige kleinere Durchbohrungen, welche sämmtlich mit Kautschukpfropfen verschlossen werden können. Die mittlere (5 bis 6 cm breite) Durchbohrung dient zum Einführen der Objecte. Die Versuchsobjecte werden, um den Gasen von allen Seiten den Zutritt zu gewähren,

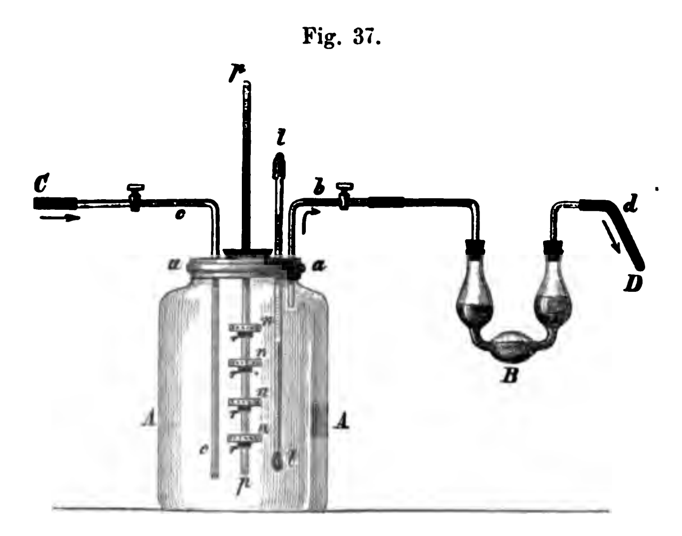
---

1) Comptes rendus. Bd. 96, 1883, Nr. 15.

2) Ueber die Desinfection mit Chlor und Brom. Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. II., 1884, S. 228.

in siebartig durchlöcherte Paraffinnäpfchen n gelegt. Diese Näpfchen, deren Durchmesser zur bequemen Einführung etwas geringer ist, als der der Durchbohrung, werden an einem Glasstabe, pp, befestigt, welcher durch die Mitte ihres Bodens hindurchgeht, so dass mehrere solcher Näpfchen übereinander angebracht werden können. Durch schmale Gummiringe, r, wird ein Abgleiten vom Glasstabe verhütet. Der Glasstab selbst sitzt fest in einem Kautschukstöpsel, der genau die grosse centrale Oeffnung verschliesst. Das rechtwinklige, bis

Fig. 37.



fast auf den Boden reichende Glasrohr, cc, führt das nach den Regeln der Chemie im Apparate C entwickelte Gas in den Glasballon, dessen Temperatur durch das Thermometer, t, gemessen wird. Durch das dicht unter der Kappe endigende Glasrohr b kann zur Untersuchung jederzeit Gas entnommen werden, wenn man den Aspirator D in Thätigkeit setzt, mit dem man abgemessene Volumina Luft entnehmen kann. Das Gas wird in B durch eine Absorptionsflüssigkeit geleitet, in der der Gehalt des abgesaugten Luftvolumens an Gas maassanalytisch bestimmt wird.

Bei Desinfectionsversuchen in Flüssigkeiten und Gasen setzt man das an Seidenfäden angetrocknete sporenfreie und sporenhaltige Material frei der Einwirkung dieser Medien aus, um den unmittelbaren Effect rein zu beobachten. Zu anderen Versuchen verpackt

man das Material in Fliesspapier, in ausgehöhlte Kartoffeln etc., um die natürlichen, erschwerenden Bedingungen nachzuahmen.

Um den Einfluss des

Austrocknens

zu studiren, bringt man einen Tropfen Kulturflüssigkeit mit Bakterien auf ein Deckglas, lässt den Tropfen, gegen Staub geschützt, an der Luft oder im Exsiccator eintrocknen, dann bringt man nach Stunden oder Tagen und Wochen einen Tropfen der Kulturflüssigkeit auf das eingetrocknete Präparat und legt das Deckglas mit dem hängenden Tropfen in eine feuchte Kammer. Die durch das Eintrocknen herbeigeführte Erschöpfung des Nährbodens macht sich unter sonst günstigen Bedingungen auf endospore Bakterien dadurch bemerkbar, dass dieselben in den Fäden resistente endogene Sporen bilden, welche selbst nach Monaten bei Zusatz der Nährlösung wieder auskeimen. Wenn die sonstigen Bedingungen aber zur Bildung endogener Sporen nicht genügen oder wenn es sich um Bakterien handelt, welche keine gegen die Trockenheit sehr resistente Sporen bilden oder deren Dauerform noch nicht ermittelt ist, dann wirkt das Austrocknen in einiger Zeit gleichzeitig tödtend, so dass später bei Zusatz der Nährlösung kein Auskeimen dieser Bakterien mehr eintritt.

Die direkt oder in ihren Sporen abgeschwächten parasitischen Bakterien können vielleicht einen **Schutz** gegen die virulenten Bakterien verleihen. Wenn die Versuchsthiere die Impfung mit dem abgeschwächten Material überstanden haben, werden sie in kürzeren oder längeren Intervallen mit dem virulenten Materiale inficirt, wobei die Technik selbst sich nicht ändert.

Die Einwirkung starker Kältegrade und hohen Druckes

auf die Bakterien ist nur mit besonderen Apparaten zu studiren. Bis jetzt gehen die Angaben noch derart auseinander, dass ich mich mit Andeutung dieses Gebietes begnügen muss. Der Wunsch, dass auch diese Seite der Methodik bald etwas besser bearbeitet wird, ist begründet durch die Angabe der Existenz aerobiotischer Bakterien in

beträchtlichen Meerestiefen und durch die Resistenz von Bakterien gegen entsprechenden künstlich hervorgerufenen Druck[1]) bis zu 1000 Atm. Hierher gehören auch die Angaben von Chauveau und Wossnessenski[2]), dass Drucksteigerung erst abschwächend und bei gewisser Höhe tödtend auf Milzbrandbacillen wirkt. Während die Resistenz vieler Bakterien gegen das Einfrieren bei leichter Frosttemperatur sichergestellt ist und durch Aussetzen der geimpften Lösungen oder der Reinkulturen im Winter leicht (sonst event. durch Kältemischungen) geprüft werden kann, schwanken die Angaben über die äussersten Temperaturen unter 0° beträchtlich. Pictet und Young[3]) geben als untere Grenze 108 Stunden bei —70° und 20 Stunden bei —130° an.

Die Electricität

ist nach Cohn und Mendelsohn[4]) in Form der physiologisch wirksamen Inductionsströme auf Bakterien in Flüssigkeiten ohne Wirkung. Die Wirkung des constanten Stromes auf die Vermehrung von Bakterien in Nährlösungen sowohl, als auf die Entwickelung von Mikrokokkus prodigiosus an der Oberfläche von Kartoffeln hing ab von der Stromstärke und war zurückzuführen auf die electrolytische Wirkung des Stromes.

Die Phosphorescenz

der Bakterien hat Ludwig[5]) versucht, durch einen Mikrospectralapparat zu bestimmen, und Engelmann[6]) fand, dass die Schwärmbewegungen des bakterium photometricum abhängig sind

vom Lichte

und dass im Sonnenspectrum die Ansammlung der Zellen am stärksten im Ultraroth ist und durch Grün oder Blau nach dem Violett hin

---

1) Certes, Comptes rendus, Bd. 98, S. 690 und 745, Bd. 99, S. 385.

2) Comptes rendus, Bd. 98, S. 314.

3) Comptes rendus, Bd. 98. S. 747.

4) Beiträge zur Biologie. Bd. III, Heft 1, S. 141.

5) Ueber spectroskopische Untersuchung photogener Pilze. Zeitschrift für wissenschaftl. Mikroskopie 1884. Bd. I. S. 181.

6) Archiv f. d. ges. Physiologie 1883. Bd. 30, S. 95.

immer mehr abnimmt. Nach Duclaux[1]) und Arloing[2]) wirkt das directe Sonnenlicht auf nicht sporenbildende Bakterien in kurzer Zeit, auf Sporen in längerer Zeit schwächend und schliesslich tödtend, wenn die geimpften Nährlösungen jeden Tag einige Zeit der Sonne ausgesetzt werden. Die Insolation wird deshalb von Duclaux und Arloing als ein wichtiger hygienischer Factor betrachtet. Das diffuse Tageslicht ist nach den bisherigen Erfahrungen kaum von Einfluss; nur bei den höheren Arten, wie Beggiatoa roseo-persicina, scheint das Wachsthum eine gewisse Begünstigung durch das Licht zu erfahren. Nach einer mündlichen Mittheilung von Herrn Professor Engelmann ist das bakterium photometricum wahrscheinlich das vegetative Stadium einer dieser höheren, pleomorphen Arten.

---

1) Comptes rendus, 1885, Bd. 100, S. 119; Bd. 101, S. 395.

2) ibid. 1885, Bd. 100. No. 6, Bd. 101, No. 8 und 9.

VI. Specielle hygienische Untersuchungen.

Die bisherigen Erfahrungen haben sicher gestellt, dass Bakterien oder deren Keime in der Erde, dem Wasser und in der Luft vorhanden sind. Aus der Luft können sie auf den Erdboden oder ins Wasser gelangen und umgekehrt müssen auch die im Wasser oder der Erde vorhandenen Bakterien in die Luft gelangen können. Nur in der Erde und im Wasser finden die Bakterien sämmtliche Existenzbedingungen, während sie in der Luft immer nur Verunreinigungen, wenn auch kaum vermeidbare, darstellen. Zum Zustandekommen einer Bakterienvegetation gehören Nährsubstanzen, Feuchtigkeit und bestimmte Temperatur. Die Nährsubstanzen müssen in einer bestimmten Concentration vorhanden sein, so dass bald ein stärkerer Zutritt von Feuchtigkeit, bald eine Verringerung des Feuchtigkeitsgrades die günstigsten Bedingungen schaffen kann; tritt dann noch eine zusagende Temperatur ein, so wird die Bakterienvegetation ein Maximum erreichen können. Je nach dem Zusammentreffen dieser Umstände ist bald die eine bald die andere Art im Kampfe um's Dasein bevorzugt, und da sich derartige Verhältnisse oft auf kleineren Räumen concentriren, ist weiter die Möglichkeit gegeben, dass sich kleinere oder grössere Localisationen bestimmter Arten ausbilden. Strömendes Wasser wird solche Localisationen wenig begünstigen, dagegen wird man in mehr stillen und stagnirenden Wassern derartige Processe wohl nie vermissen, vor allem aber die Bildung solcher Heerde im Boden erwarten dürfen. Während die Luft und strömendes reines Quellwasser wesentlich nur als Träger und Verbreiter von Bakterien und deren Keimen sich darstellen, sind stille oder gar stagnirende Wasser und der Erdboden die eigentlichen Brutstätten der Bakterien. Da aber die beste Concentration der Nährsubstanzen, der richtige

Feuchtigkeitsgehalt und die günstigste Temperatur sich nicht immer zusammen finden oder sich in ungünstiger Weise ändern können, tritt zur Erhaltung der Art die Fructification oder Sporenbildung ein, welche es der Art ermöglicht, bei ungünstigen äusseren Verhältnissen zu persistiren. Die natürlichen Brutstätten der Bakterien in der Erde und event. im Wasser können deshalb bald vegetative Formen, bald Ruheformen, bald Fructifications- und Dauerformen führen, und in einer dieser Formen gelangen sie dann in die allgemeinen Verbreiter, die Luft und das fliessende Wasser. Aber auch Dauerformen von Bakterien, welche nicht in diesen natürlichen Heerden zu keimen vermögen, können in Wasser, Boden oder Luft gelangen und auf einem der geschilderten Wege schliesslich irgendwo deponirt werden, so dass sich ein Heerd von Dauerformen bildet.

Um diese allgemeinen biologischen Verhältnisse epidemiologisch besser und unbefangener verwerthen zu können, als es gewöhnlich geschieht, ist es nöthig, über dem Parasitismus der Bakterien eine möglichst wenig doctrinaire, von Einseitigkeiten und Extremen freie Ansicht zu gewinnen. Eine derartige Beurtheilung ist schon angebahnt durch die Untersuchungen und Ansichten von Brefeld, Koch, von Pettenkofer, van Tieghem, de Bary und mir. Es giebt Bakterien (cf. die Einleitung und S. 181 und S. 214), welche schon bei Temperaturen unter 15° C. vegetiren und Dauerformen bilden können, wieder andere vegetiren bei derselben Temperatur, vermögen aber nur über 15° Dauerformen zu bilden, so dass sie nur zu bestimmten Zeiten und an bestimmten Orten die Gelegenheit zur Vollendung ihres ganzen Formenkreises unter den natürlichen Verhältnissen finden. Diese Bakterien sind, weil sie zur Erhaltung der Art nur auf todte Substrate angewiesen sind, Saprophyten. Manche dieser Saprophyten, z. B. die Milzbrandbacillen, Pneumoniekokken, vermögen aber, in den thierischen Körper gelangt, diesen krank zu machen; ihr Parasitismus ist aber nicht absolut nöthig zur Arterhaltung, er ist nur ein gelegentlicher, ein facultativer, sie sind facultative Parasiten.

Einen höheren Grad der parasitischen Adaption repräsentiren Bakterien, welche bei unseren klimatischen Verhältnissen ausserhalb des Thierkörpers wohl nie die Möglichkeit der Bildung von Dauer-

formen finden. Diese Arten müssen den ganzen Kreislauf, vegetative Zustände und Fructification, im thierischen Organismus durchmachen, aber ihre vegetativen Zustände können sich auch ausserhalb des lebenden Organismus bei Zusammentreffen günstiger örtlicher und zeitlicher Verhältnisse, d. h. bei richtiger Nahrung, Feuchtigkeit und Temperatur, eine Zeit lang lebensfähig und virulent erhalten und durch Theilung vermehren; diese saprophytische Lebensweise ist nur eine gelegentliche, eine facultative, aber sie genügt nicht sicher zur Arterhaltung, sie sind facultative Saprophyten. Für die eine oder andere dieser Arten, welche bei uns nur facultativ saprophytisch zu existiren vermag, bieten heissere Klimate, die Tropen, vielleicht zeitweilig die Möglichkeit einer rein saprophytischen Existenz. So wird man z. B. schwanken können, ob man die Typhusbacillen an die oberen Stellen der facultativen Parasiten verweisen oder ihnen einen niederen Platz unter den facultativen Saprophyten zugestehen soll. Die Kommabacillen der cholera asiatica scheinen nach den bisherigen Ermittelungen bei uns nur als facultative Saprophyten existiren zu können, während sie in ihrer Heimath wahrscheinlich als facultative Parasiten fortkommen. Die Dauerformen dieser Gruppe von Bakterien können sich natürlich ausserhalb des Organismus erhalten ohne sich zu vermehren.

Eine andere Gruppe von Bakterien findet unter natürlichen Verhältnissen nur im thierischen Körper noch Gelegenheit zur Existenz in vegetativer Form und zur Bildung von Dauerformen und selbst in den Tropen dürften ihre vegetativen Formen ausserhalb des Organismus wohl nirgends fortkommen. Diese streng obligaten Parasiten zeigen aber verschiedene Grade der Anpassung an die parasitische Lebensweise, insofern es im Experiment gelungen ist in Reinkulturen künstlich eine Art tropisches Klima herzustellen, welches ihnen gestattet auch ausserhalb des Organismus fortzukommen, während dies unter natürlichen Verhältnissen nicht mehr möglich ist, wie es z. B. die Bakterien der Tuberkulose lehren. Andere Bakterien dieser Gruppe, z. B. die Spirochäten des Rückfallfiebers, vermochte man bis jetzt noch nicht ausserhalb des Organismus fortzubekommen und schliesslich muss man daran denken, dass einzelne Bakterien vielleicht sogar nur in bestimmten Species existiren können.

Die Bakterien dieser Gruppe finden sich ausserhalb des lebenden Organismus demnach nur in Dauerform, aber nicht in vegetativen Formen.

Der Grad der parasitischen Adaption sagt direct noch gar nichts aus über den Modus der Infection. Einzelne Arten werden von der Lunge her durch Einathmung aufgenommen, andere wirken vom Darme her, andere von Wunden aus. Einzelne Arten können bestimmt in verschiedener Weise den Körper inficiren; zum Theil ist die Form, unter der die Bakterien den Körper befallen, auf der Modus der Infection von Einfluss, indem z. B. vegetative Formen von einer Wunde her inficiren, während sie im Magen durch dessen Säure geschwächt oder getödtet werden; ihre Sporen dagegen werden durch die Magensäure nicht alterirt und können deshalb vom Darme her wirken. Die miasmatische Infection der Epidemiologie deckt sich nicht etwa mit facultativem Parasitismus oder facultativem Saprophytismus und ebensowenig ist der Begriff der Contagion identisch mit obligatem Parasitismus. Das kann, aber es muss nicht der Fall sein. Untersucht man den Modus der Infection für sich und den Grad der Anpassung an die parasitische Lebensweise ebenso gesondert, so wird man oft überrascht sein, zu finden, wie Epidemiologie und Bakteriologie schon jetzt sich decken, während ein einseitiger Standpunkt nur Differenzen zu zeigen scheint.

Die bakteriologische Untersuchung von Erde, Wasser und Luft hat zuerst festzustellen, ob überhaupt Bakterien in einem dieser Substrate vorhanden sind, sie hat weiter die Zahl der Bakterienkeime zu ermitteln und mit der Zahl der anderen Mikroorganismen zu vergleichen. Diese Statistik lehrt dann im Laufe von Jahren allmählich, welche der gefundenen Arten für bestimmte Oertlichkeiten mehr specifische, welche als zufällige Verunreinigungen zu betrachten sind, und welche Arten in Folge einer Imprägnirung mit Abfallstoffen direct verdächtigen Quellen enstammen. Die Arten der verunreinigenden Bakterien können vielleicht einen Anhalt geben, ob die Quelle der Verunreinigung leicht zu beseitigen ist oder als eine schwer vermeidbare Zugabe unserer Kultur milder beurtheilt werden muss. Weiter hat die Forschung zu ermitteln, ob unter den gefundenen Arten krankheitserregende sind und bei diesen besonders darauf zu

achten, ob die gefundenen Arten facultative Parasiten oder facultative Saprophyten sind, ob dieselben also im Stande sind, zeitweilig auch ausserhalb des thierischen Körpers die ganze Entwickelung oder ein Theil derselben zu absolviren, oder ob sie nicht vielmehr obligate Parasiten sind, also nur in Dauerform vorhanden sein können. Schliesslich ist durch besondere Experimente zu ermitteln, unter welchen Bedingungen Bakterien aus dem einen Medium in ein anderes übergehen können; durch diese Versuche wird ein besseres Verständniss angebahnt über die Art und Weise, wie ein in einer Wassermasse oder im Boden abgeschlossener Herd von krankheitserregenden Arten nach aussen gelangen und dadurch Ursache einer Infection oder einer Epidemie werden kann. Epidemiologische Erfahrungen und Experimente machen es wahrscheinlich, dass der Grund zu dem bald milderen, bald schwereren Verlaufe von Epidemien zum Theil wenigstens darin liegen kann, dass der Grad der Virulenz der pathogenen Arten etwas schwanken kann. Vorläufig ist das Thierexperiment noch nicht empfindlich genug um hier schon viel zu leisten, aber gegebenen Falls wird man auch hieran zu denken haben.

A. Boden.

Durch Schlösing und Müntz[1]) war zuerst experimentell erwiesen worden, dass im Boden das aus dem Zerfalle organischer Substanzen sich bildende Ammoniak durch die Thätigkeit von Bakterien in Salpetersäure[2]) übergeführt werden kann und Müntz und Marcano[3]) führen die Bildung der grossen Salpeterlager in den Tropen auf dieselbe Ursache zurück. Die Oxy-

---

[1]) Comptes rendus. Bd. LXXVII, 1877, S. 203 und 353; Bd. LXXXIV, S, 301; Bd. LXXXIX, S. 891.

[2]) Für die chemische und physikalische Seite der Fragen muss ich auf die Handbücher der analytischen Chemie, Meteorologie und Experimentalhygiene verweisen: besonders Flügge, Lehrbuch der hygienischen Untersuchungsmethoden, 1881; Fresenius, Anleitung zur quantitativen Analyse, 6. Aufl.; wegen der Verwechselungen mit anorganischen Massen, Niederschlägen vergl. Haushofer, Mikroskopische Reactionen, 1885.

[3]) Comptes rendus, 1885, Bd. 101, S. 65.

dation des Kohlenstoffs der organischen Substanzen zu Kohlensäure wurde von Wollny[1]) gleichfalls experimentell auf Mikroorganismen zurückgeführt. Umgekehrt findet in den Bodenschichten mit Beschränkung des Luftzutritts eine Reduction der Nitrate durch Bakterien statt, wie Gayon und Dupetit[2]) fanden, wobei bald nur Nitrite, bisweilen aber Stickstoff, Ammoniak, Stickoxydul sich bilden. Diese Experimente stellt man derart an, dass man in sterilisirte schwach alkalische Nährlösungen oder Abwässer, welche Ammoniaksalze, Nitrite resp. Nitrate enthalten, eine Spur Erde einträgt, während man zur Controle in andere Gläser Erde bringt, welche durch mehrstündiges Erhitzen bei 150 bis 160° sterilisirt war. Zu den Reductionen wendet man die Versuchsanordnung über Anaerobiose an.

Hierdurch wurden die ersten positiven Grundlagen für das biologische Verständniss der bis dahin rein hypothetischen Grundwassertheorie geliefert.

Der directe Nachweis, dass im Boden aber auch pathogenetische Organismen, resp. deren Sporen vorhanden sein können, wurde 1881 von Pasteur und Koch[3]) für die Bacillen des malignen Oedems gebracht, und Nicolaier[4]) kultivirte aus Erde eine Bacillenart, welche bei Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen tödtlichen, auf andere Thiere übertragbaren Tetanus hervorrief.

Solche Ermittelungen lassen ein genaueres Studium der im Boden vorhandenen Bakterien wünschenswerth erscheinen, weil in demselben facultative Parasiten bei genügender Feuchtigkeit und Temperatur sämmtliche Existenzbedingungeu finden, während facultative Saprophyten zeitweilig im Boden fortkommen können; auch ihre Dauerformen können sich im Boden finden. Die obligat parasitischen Bakterien können wenigstens in ihren Dauerformen im Boden conservirt werden.

---

[1]) Landw. Versuchsstationen, Bd. XXV, 1880, S. 390.

[2]) Comptes rendus, 1882, Bd. LXXXXV, S. 644 und S. 1365.

[3]) Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. I, 1881, S. 56.

[4]) Ueber infectiösen Tetanus. Deutsche med. Wochenschrift 1884, No. 52.

Um über die Anwesenheit von Bakterien oder entwicklungsfähigen Keimen derselben im Boden möglichst umfassenden Aufschluss zu erhalten, bedient man sich aus den früher dargelegten Gründen am vortheilhaftesten der Gelatineplattenkulturen von Koch, in denen die saprophytischen Bakterien, die bis jetzt bekannten facultativen Parasiten und facultativen Saprophyten sich bis zu isolirbaren Colonien entwickeln können. Da einzelne der in der Erde schon nachgewiesenen Organismen, wie die Oedem- und Buttersäurebacillen, anaerobiotisch sind, so überdeckt man einzelne Gelatineplatten mit einer Glimmerscheibe.

Man verreibt die Bodenprobe in einer sterilisirten Reibschale mit einem sterilisirten Pistill und streut von dem feinen Staube mit einem sterilisirten Skalpell auf eine noch zähflüssige Gelatine, welche auf eine Platte ausgegossen ist. Man kann auch von dem Boden einige feine Partikel in die noch im Reagirglase befindliche, verflüssigte Gelatine eintragen, durch Schütteln vertheilen und dann die so inficirte Gelatine auf die Platte bringen. Die Controle erfolgt dadurch, dass man andere, sonst ebenso behandelte Platten in derselben Weise mit Bodenpartikelchen inficirt, welche aber durch zweistündiges Erhitzen auf 150 bis 160° sterilisirt waren. Zum Zählen der Bodenkeime schüttelt man eine abgewogene Menge des lufttrocknen Bodens mit einer abgewogenen grossen Menge sterilisirtem Wasser, decantirt und behandelt die Flüssigkeit wie Wasser, indem man eine bestimmte Menge zur Kultur verwendet.

Streng obligat parasitische Bakterien können sich im Boden nur in Dauerform finden und man kann dieselben aus dem Boden wohl nur ausnahmsweise einmal direct kultiviren. In der Regel bedarf es des Umweges durch die Infectionsmethode, um ein möglichst reines Ausgangsmaterial für Blutserumkulturen zu gewinnen. Man bringt von dem Boden in eine oder mehrere Hauttaschen und inficirt dann mit dem Eiter, dem Blute oder Gewebssafte der erkrankten Thiere andere. Nach einigen Uebertragungen werden dann die Thiere in ihren Geweben oder im Blute Reinkulturen der malignen Art darstellen und man kann dann in der früher geschilderten Weise Blutserumkulturen anlegen, wie

es auch von Nicolaier mit Erfolg geschehen ist. Auch bei den anaerobiotischen Bacillen des malignen Oedems führt dieser Weg schnell zum Ziele, die Reinkulturen aus dem Gewebe macht man dann, wie es schon S. 180 geschildert wurde.

Zu beachten ist, welche der verschiedenen Bodenschichten die reichste Bakterienvegetation zeigen. Als Anhalt kann dienen, dass Koch in den oberen Schichten die verschiedensten Arten beobachtete, während in tieferen Schichten sich nur Dauerformen von endosporen Arten fanden. Die nach von Pettenkofer zum Ablaufe der biologischen Processe im Boden unerlässliche Bodenfeuchtigkeit, mag sie nun nach von Pettenkofer durch den Stand des Grundwassers an vielen Oertlichkeiten mit bestimmt werden oder nach Virchow auch ohne Grundwasser weit verbreitet sein, findet sich nach Hoffmann's Ermittelungen über die mechanischen Verhältnisse der über dem Grundwasser liegenden Strata vorwiegend in den obersten Bodenschichten. Nur hier erfolgt der erforderliche Wechsel von Feuchtigkeit und Luft, nur hier wirkt die Insolation kräftig genug. Durch Zerstäubung können Bakterien mit den feinen Bodenpartikeln in die Luft geführt werden, während auch heftige Luftströmungen ohne gleichzeitige Zerstäubung aus der Bodenluft keine Bakterien in die Atmosphäre reissen. Bakterien, welche aus dem Boden in die Atmosphäre gelangen, müssen also immer bis an die Oberfläche kommen können. Aus tieferen Schichten können die Bakterien capillar gehoben werden bei starker Verdunstung an der Oberfläche, wie sie an manchen Oertlichkeiten mit dem Sinken des Grundwassers parallel gehen kann, ohne dass dies aber überall geschehen muss. Soyka[1]) demonstrirte dies durch folgende Versuchsanordnung. Ein Glasrohr von 1,5 cm Durchmesser und 30 bis 70 cm Länge, steckt derart in einem birnförmigen Glasgefäss, dass ca. 3 cm des Glasrohres in das Gefäss hineinreichen. Der auf diese Weise am Grunde des Gefässes, zwischen der Wand desselben und dem Glasrohre befindliche Raum dient zur Aufnahme von Nährlösungen oder Nährgelatinen, welche bis an den Rand des Glasrohres reichen. Oben verengt sich das birnförmige Gefäss und erhält an dieser Stelle

---

[1]) Prager medicinische Wochenschrift 1885, No. 28.

einen Watteverschluss. Die Röhre wird derart mit Erde oder Glaspulver gefüllt, dass sie oben eine Kuppe bildet, so dass bei einer Erschütterung oder Neigung von dieser Erde in die Nährlösung fallen kann. Der Apparat wird durch Dämpfe sterilisirt und nach dem Erkalten mit dem unteren Ende in eine Flüssigkeit eingesenkt, welche eine bestimmte Art von Mikroorganismen enthält. Diese Flüssigkeit steigt erst rapide, dann langsamer, im Verlaufe mehrerer Tage capillar durch die Erdschicht bis zur freien Kuppe empor. Mit der Flüssigkeit steigen aber auch die Organismen empor und wenn man dann durch leichtes Schütteln etwas Boden von der Kuppe auf die Nährlösungen fallen lässt, entwickeln sich in denselben diese Organismen in Reinkulturen.

B. Wasser.

Die chemische Wasseruntersuchung kann allein keinen Anhalt für den hygienischen Werth oder Unwerth eines zu Nutz- und Trinkwasser bestimmten Wassers bieten. Das chemisch reinste Wasser, das destillirte Wasser der Laboratorien z. B., enthält immer Bakterien und deren Keime, und umgekehrt kann chemisch ziemlich unreines Wasser relativ wenig Mikroorganismen enthalten. Von den chemischen Stoffen behält der Typus der Stadtlaugenstoffe, das Chlornatrium, als Index der Verunreinigung bei Vergleichen mit guten Bezugsquellen immer seinen Werth und ebenso die Nitrite, weil sie aus den vorher geschilderten Gründen einen Anhalt dafür geben, dass das Wasser mit Oertlichkeiten in Verbindung steht, in denen biologische Processe noch nicht zur Ruhe gekommen sind, sei es dass die Nitrite durch Oxydation oder Reduction entstanden sind. Bei Emanzipirung von den Grenzzahlen und sorgfältiger Beachtung der localen Verhältnisse wird man aber auch mit den übrigen chemischen Ermittelungen nach wie vor werthvolle Aufschlüsse auch für den hygienischen Werth des Wassers erhalten.

Aber nicht nur die löslichen Stoffe der biologischen Processe im Boden können sich dem Wasser beimischen, sondern auch die Organismen selbst. Durch Regen können Organismen aus den oberen Bodenschichten in tiefere geführt werden und so in das Grundwasser

und mit diesem in Brunnen und freie Wasserläufe gelangen. Ebenso gut wie eine Imprägnirung des Bodens mit Abfallstoffen erfolgen kann, kann auch eine Verunreinigung des Wassers durch derartige Stoffe des menschlichen Haushaltes vorkommen. Ausserdem führt das Wasser der Bäche und noch mehr der Teiche, Seen etc. immer Bakterien.

A priori liegt nicht die geringste Ursache vor, das Nutz- und Trinkwasser für die Entstehung und Verbreitung von Infections-Krankheiten als gleichgültig hinzustellen. Es ist deshalb besonders bei Anlage und Prüfung einer Wasseranlage zuerst zu ermitteln, ob das Wasser an sich arm oder reich an entwicksungsfähigen Keimen ist, ob die Umgebung auf den Gehalt an Keimen von Einfluss ist, wie es sich durch die Leitung ändert. Für eine derartige vergleichende Prüfung kommt es nicht sowohl auf eine absolut beste Methode an als vielmehr darauf, dass immer dieselbe Methode verwendet wird und hierzu ist unbedingt die praktischste Methode die Gelatine-Plattenkultur.

Das Wasser wird in sterilisirten Gefässen aufgefangen, mit sterilisirter, abgekühlter Pipette 1 ccm entnommen und in einem Reagirglase mit ca. 10 ccm bei 30° C. verflüssigter 10%iger Nährgelatine gut gemischt. Dann wird die Mischung auf eine sterilisirte Platte ausgegossen, welche nach dem Erstarren der Gelatine in eine feuchte Glocke kommt. Ist der Bakteriengehalt grösser, so verwendet man zunächst statt eines Cubikcentimeters einen Theil eines solchen, etwa 1 Tropfen, an und erst wenn auch dies nicht genügt, die directe Verdünnung durch sterilisirtes Wasser. Man nimmt dann von der Verdünnung eine bestimmte Einheit.

Aus praktischen Gründen, um direct vergleichbare Zahlen zu gewinnen, empfiehlt es sich nach Koch[1]) die Zahl der entwicklungsfähigen Keime oder richtiger die Zahl der zur Entwicklung gelangten Colonien auf ein Cubikcentimeter des ursprünglichen Wassers zu berechnen. Taf. I,

[1]) cfr. auch Becker's Anleitung zur Untersuchung des Wassers auf Mikroorganismen. Börner's Reichs-Medicinal-Kalender für 1885, Heft II.

Fig. 4 gibt die Zahl der aus einem Cubikcentimeter unverdünnten Wassers zur Entwicklung gelangten Colonien.

Sind viele die Gelatine verflüssigende Bakterien vorhanden, so muss man Agarplatten anlegen. Für genauere Untersuchungen empfiehlt es sich, Gelatineplatten bei 18 bis 20° und Agarplatten bei Brüttemperatur anzulegen. Eine sorgfältige Vergleichung mit Gelatine- und Agarplatten einerseits mit der Verdünnung in Flüssigkeiten und zwar sowohl durch sterilisirtes Wasser als direct in Nährlösung andererseits hat mir ergeben, dass, wenn die Zahl der Keime eine relativ geringe ist und etwa 100 pro 1 ccm nicht übersteigt, die Differenzen nur unbedeutende waren; dass aber die Differenzen nicht nur der verschiedenen Methoden untereinander, sondern auch bei derselben Methode um so grösser wurden, je mehr Keime vorhanden waren und je mehr in Folge dessen die directe Beobachtung durch Rechnung ersetzt wurde. Ich bin deshalb der Ansicht, dass bei grossem Bakteriengehalte berechnete Zahlen, wegen der uncontrolirbaren Fehlerquelle, bei allen Methoden nur interessante Curiosa oder besten Falles Annäherungszahlen darstellen. Eine wirkliche oder constante Ueberlegenheit der Verdünnungsmethode mit Flüssigkeiten habe ich nicht beobachtet und auch bei dieser Methode die grössten Schwankungen gefunden, so dass ich die Ansicht von Fol[1]) nicht theilen kann, dass auf Gelatine nur 4% aller Keime zur Entwicklung kommen und man demnach mit 25 multipliziren müsse, um die richtige Zahl zu erhalten.

Viel wichtiger als die Ermittelung grosser Zahlen von Keimen ist die Sicherstellung der verschiedenen Arten und in dieser Hinsicht ist die Gelatinemethode an Sicherheit und Bequemlichkeit allen übrigen Methoden überlegen. Für besonders wichtig muss es in dieser Hinsicht angesehen werden, dass gerade die hygienisch wichtigsten Bakterienarten, die des Abdomial-Typhus und der Cholera asiatica in Gelatine zur Entwicklung gelangen und wenigstens so gut characterisirt sind, dass man bei ähnlichem Wachsthum sofort aufmerksam wird. Bei irgend welchem Verdachte sind die betreffenden Arten für sich zu kultiviren, auf alle besonders wichtigen Sub-

---

1) Archives des sciences physiques naturelles 1885, Bd. 13, S. 110.

strate, wie Bouillon, Milch, Kartoffeln zu übertragen und durch Thierversuche auf maligne Eigenschaften zu prüfen.

Kann das zu untersuchende Wasser direct geholt werden, so füllt man es am besten in sterilisirte Kolben, welche sofort mit sterilisirtem Wattepfropf verschlossen werden. Zum weiteren Transport empfiehlt sich folgendes Verfahren. Kleine cylindrische, mit eingeschliffenem Glasstöpsel versehene Flaschen von ca. 100 ccm Inhalt werden im Laboratorium gründlich gereinigt und bei 150 bis 160° sterilisirt. Dann wird eine im Wasserdampf sterilisirte Gummikappe über den Stöpsel fest übergezogen und das Gefäss mit Kappe in einer kleinen Holzbüchse eingeschlossen. Zur Entnahme von Wasser aus einer Röhrenleitung lässt man das Gefäss, nachdem das Wasser erst einige Minuten ausgelaufen ist, unter der Leitung voll laufen, während Gummikappe und Stöpsel mit sterilisirirten Fingern gehalten werden, setzt dann den Stöpsel fest auf, zieht die Gummikappe über und schliesst in die Büchse ein. Auch vor der Flamme ausgezogene und zugeschmolzene und nach der Füllung wieder zugeschmolzene Kölbchen lassen sich verwerthen.

Zur Entnahme aus einer Quelle nimmt man die Gummikappe ab, öffnet den Glasstöpsel erst im Wasser, setzt ihn nach ca. einer Minute wieder auf, zieht die Kappe über, trocknet äusserlich ab und schliesst das Gefäss in die Büchse ein; auf diese Weise wird jede Infection ausserhalb des Wassers vermieden.

Die Prüfung von Eis auf entwicklungsfähige Keime kann man vornehmen, indem man das Eis in einem sterilisirten Kölbchen schmelzen lässt und von dem Eiswasser in Gelatine überträgt. Um den Gehalt des Regenwassers an Keimen zu prüfen, verfährt man wie bei Quellwasser. Miquel hat zum Auffangen des Regens einen besonderen Apparat construirt. Ein hohes cylindrisches Becherglas, welches vorher sterilisirt war und erst an Ort und Stelle geöffnet wird, erfüllt den Zweck genügend.

Die Zahl der sich entwickelnden Colonien ist nicht immer gleich; besonders ist jede Temperatursteigerung mit einer Vermehrung der Zahl der Keime verbunden; schon eintägiges Stehen in einem warmen Zimmer ist hierauf von Einfluss; manche saprophytische Arten vermehren sich bei ruhigem Stehen des Wassers schon unter 10°.

Ebenso wie die Zahl der entwickelten Keime schwankt auch die Zahl der differenten Arten beträchtlich. Die Beurtheilung der bakteriologischen Seite einer Wasseruntersuchung setzt eingehende Studien über die Bakterien voraus.

Der Uebergang von Bakterien aus Wasser in die Luft erfolgt, wenn das Wasser sehr heftigen mechanischen Einflüssen ausgesetzt ist, so dass es zerstäubt, wie es schon an Springbrunnen, Wasserfällen und noch mehr an der brandenden Meeresküste der Fall ist. Bei ruhigem Wasser, und auch im Experimente, gehen auch durch heftige Luftbewegung keine Keime in die Luft über; dies geschieht nur dann, wenn man die Versuche so einrichtet, dass sich Blasen bilden, welche beim Platzen verspritzen. Eine weitere Möglichkeit ist dann gegeben, wenn das Wasser verdunstet oder der Wasserspiegel sinkt, so dass die Bakterien antrocknen und mit dem Staub in die Luft gelangen können.

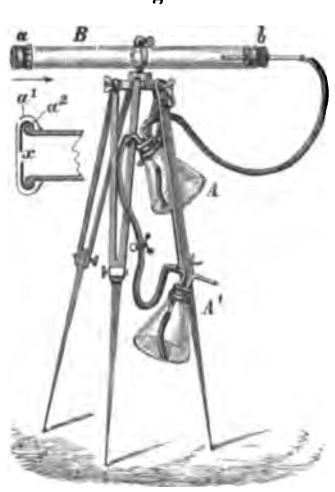
C. Luft.

Pasteur liess, nicht um den Gehalt der Luft an Keimen zahlenmässig zu ermitteln, als vielmehr um ein für alle Mal sicher zu stellen, ob überhaupt Bakterien in der Luft sind, Luft durch Schiessbaumwolle streichen, löste dann die Schiessbaumwolle in Aether und untersuchte die Lösung mikroskopisch. Miquel[1]) versuchte, unter Verbesserung früherer Apparate, die Mikroorganismen der Luft zu fixiren. In einer nach unten offenen Glocke ist ein hohler Kegel eingeschraubt, der an der Spitze eine feine Oeffnung besitzt; dieser Oeffnung gegenüber befindet sich in der Glocke ein mit 2 Theilen Glycerin und 1 Theil Glycose bestrichener Objectträger. Wird die Luft in die Glocke aspirirt, so muss dieselbe an dem Objectträger vorbeistreichen, und gibt ihren Staub an die klebrige Flüssigkeit ab, welche dann direct mikroskopisch untersucht werden kann. Miquel verwendete derartige Platten zum Theil zum Zählen von Pilzsporen und Hefen, aber nicht zum Zählen von Bakterien. Für Bakterien verwendete

[1]) Annuaire de l'observatoire de Montsouris, besonders für die Jahre 1879 und 1885.

er sie nur um zu ermitteln, in welcher Form dieselben in der Luft vorhanden sind, da sie in der klebrigen Flüssigkeit fixirt werden, ohne sich aber vermehren zu können. Dieses Princip des Fixirens der Bakterien dadurch, dass man dieselben sich in der Form senken lässt, wie sie in der Luft vorhanden sind, verwendete Koch[1]) derart, dass er Schalen mit Nähr-Gelatine, welche sich in einem hohen Glascylinder befanden, der Luft bestimmte Zeit aussetzte, indem er den Wattepfropf erst an Ort und Stelle abnahm und nach bestimmter Zeit wieder aufsetzte. Hesse[2]) verbesserte diese Methode wesentlich und construirte folgenden Apparat, welcher aus einer langen Glasröhre und einem Aspirator besteht. Die Glasröhre B, Fig. 38, besitzt eine Länge von etwa 70 cm und einen Durchmesser von 3,5 cm. Das Ende a wird mit einer mit centralem, runden Ausschnitte x versehenen, straff schliessenden Gummikappe a^2 verschlossen und über diese eine zweite ebensolche Kappe a^1 gezogen, welche aber keinen Ausschnitt besitzt und deshalb nach aussen vollständig abschliesst. Das Ende b wird mit einem fest schliessenden Gummipfropfe versehen, in dessen centraler Durchbohrung ein ca. 1 cm weites, 10 cm langes Gasrohr steckt, dessen freies Ende mit den Aspiratoren A, A^1 verbunden wird. In dieses Gasrohr werden zwei Wattepfröpfe eingepresst, von denen einer mehr central liegt, während der andere nach innen zu etwas in das Lumen der Röhre hineinragt.

Fig. 38.



Unter Entfernen des Gummipfropfs füllt man 50 ccm sterilisirte 5 bis 10%ige Nährgelatine ein, verschliesst das Ende wieder und setzt die Röhre mit Gelatine noch einmal 1 bis 2 Stunden den

1) Mittheilungen a. d. K. Gesundheitsamte, Bd. I, 1881, S. 32.

2) Ueber quantitative Bestimmung der in der Luft enthaltenen Mikroorganismen. Mittheilungen Bd. II, 1884, S. 182.

heissen Dämpfen aus. Nachdem die Röhre soweit abgekühlt ist, dass man sie gut halten kann, kleidet man die ganze Innenfläche der Röhre B mit einer feinen Schicht Gelatine aus, während der Boden, auf dem sich die Keime fast ausschliesslich ansiedeln, mit der grösseren Menge Gelatine bekleidet wird.

Zu diesem Zwecke kühlt man die Röhre unter der Wasserleitung ab, indem man sie in horizontaler Lage in ihrer ganzen Länge successive unter die Leitung bringt und sie dabei schnell um ihre Axe dreht. Ist die Gelatine nur noch ganz zähflüssig, so hört man plötzlich mit dem Drehen auf und bewegt sie nur noch horizontal; dadurch entsteht an einer Stelle in der ganzen Länge eine etwas stärkere Schicht, welche beim Aufspannen auf das Gestell als Bodenschicht nach unten kommt.

An der Beobachtungsstelle nimmt man die äussere, undurchbohrte Kappe a^1 bei a ab, setzt den Aspirator in Thätigkeit und saugt langsam Luft durch. Bei Versuchen im Freien kann man 2 calibrirte 1-Literflaschen als Aspirator verwenden.

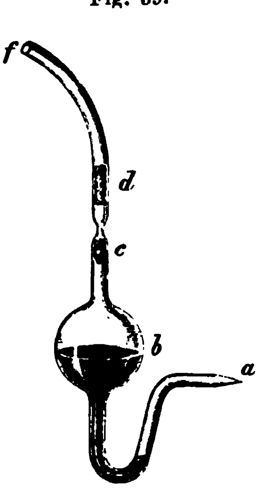
Als allgemeines Resultat ergab sich, dass die Bakterien sich am vorderen Theile reichlich entwickeln, während die Pilzsporen viel weiter innen in der Röhre zur Entwicklung gelangten. Dies rührt nicht etwa daher, dass die Bakterienkeime an sich schwerer sind als die Pilzkeime, sondern daher, dass die letzteren mehr isolirt sind, während die Bakterien gewöhnlich zu mehreren Einzelindividuen verklebt und an Staubpartikelchen angeklebt und dadurch schwerer sind. Es ergiebt sich aber weiter hieraus, dass bei diesem Verfahren principiell darauf verzichtet wird, die einzelnen Keime möglichst zu isoliren. Ausserdem ist zu beachten, dass ein Auffallen trockner Keime auf die Oberfläche noch keine Garantie für Auswachsen gibt.

Dem letzteren Uebelstande suchen die Verfahren zu entgehen, bei denen man die mit Keimen beladene Luft durch eine Flüssigkeit streichen lässt, welche gleichsam als Waschflüssigkeit dient, die Keime zurückhält, aber auch benetzt und dadurch zum Auskeimen geeigneter macht. Miquel[1]) verwendete hierzu den

[1]) Bulletin de la Société chimique de Paris 1878, Bd. 29, S. 397; Les organismes vivants de l'atmosphère 1883, S. 138 und 175.

Apparat Fig. 39. Im Verlaufe einer Glasröhre a—f wird eine Kugel b von ca. 50 ccm Inhalt geblasen, darauf das eine Ende s-förmig gekrümmt, während das andere f gerade bleibt oder nur eine leichte Biegung erhält. In diesen Theil der Röhre werden etwas von einander entfernt zwei Pfröpfe von Asbest oder Glaswolle, c und d, eingebracht und zwischen beiden die Röhre ausgezogen. Der Apparat wird durch trockene Hitze sterilisirt, dann mit ca. 20 ccm der Nährlösung gefüllt, indem das Ende a in dieselbe eingetaucht und bei f gesaugt wird; durch Neigen des Apparates wird dann die Spitze a getrocknet und vor der Flamme zugeschmolzen und die Lösung im Apparat durch Dampf sterilisirt. Zum Gebrauche wird der Apparat derart befestigt, dass der Schenkel c d mit dem Horizonte einen Winkel von ca. 25 Graden bildet und die Spitze a nach oben steht. Das Ende f wird durch Kautschukschläuche mit einem Aspirator verbunden, dann wird das zugeschmolzene Ende a noch einmal erhitzt und mit glühender Zange abgebrochen und darauf der Aspirator in Gang gesetzt. Nach Abbrechen des Versuches wird die Spitze a wieder zugeschmolzen und durch heftiges Blasen am Ende f der Pfropf c, der vielleicht noch einige Keime enthält, in die Flüssigkeit getrieben, dann wird durch Senken des Apparates die Flüssigkeit bis zur Spitze a getrieben, so dass alle Keime zwischen a und d in die Flüssigkeit kommen. Man lässt durch eine grössere Zahl solcher Kölbchen bestimmte und gleiche Volumina Luft gehen, z. B. 3 Liter, so dass bei 50 Kölbchen 150 Liter Luft in toto untersucht werden, und wiederholt dies unter verschiedenen Aussenbedingungen, welche aber unter allen Umständen derart variirt sein müssen, dass ein Theil der Kölbchen nicht inficirt ist. Bei dieser Art des Operirens wird aber der von Miquel versprochene Effect einer zuverlässigen Zählung deshalb nicht sicher erreicht, weil keine ausreichende Mischung eintritt, sondern die Keime sich

Fig. 39.



unter denselben Verhältnissen befinden wie bei der Anordnung von Hesse. Es ist unmöglich zu erkennen, ob die zur Entwicklung gelangten Organismen nur einem Keime entstammen oder einer Anhäufung solcher Keime; ob sie einer einzigen Art angehören oder ob nur die eine Art deshalb zur Entwicklung gekommen ist, weil die Bedingungen für dieselbe günstiger als für andere waren. Man erfährt durch das Verfahren von Miquel streng genommen nicht, wie viel Keime ein bestimmtes Luftvolumen hat, sondern vielmehr wie viel Luft zu verwenden ist, um überhaupt eine Entwicklung zu erhalten. Das Verfahren fractionirt die Luft, aber nicht die keimhaltige Waschflüssigkeit. Die bisher betrachteten Verfahren versuchen die Keime zur Entwicklung zu bringen in dem Verbande, in welchem sie in der Luft vorhanden sind, aber sie verzichten darauf, die Keime möglichst zu isoliren. Man bedarf deshalb noch einer Methode, welche nicht nur die Keime mit oder ohne gleichzeitige Benetzung in dem natürlichen Verbande ihres Vorkommens zur Entwicklung bringt, sondern welche versucht, die Keime noch mehr und besser von einander zu trennen. Dieser Wunsch, auch möglichst die Einzelkeime zu isoliren, wird gerechtfertigt durch die Erfahrung, dass solche kleinsten Gruppen von Bakterien, wie sie bei den Verfahren von Hesse und Miquel als Ursprung von Colonien sich darstellen, einheitlich sein können aber nicht müssen.

Man kann zu diesem Zwecke den Apparat von Miquel, Fig. 39, benutzen. Man lässt aber dann nicht kleinere, fractionirte Volumina Luft durch viele solche Apparate durchgehen, sondern ein grösserer Volumen durch einen derartigen Ballon. Nach Abbrechen des Versuches vertheilt man dann diese keimhaltige Flüssigkeit, d. h. man fractionirt dieselbe nach den Regeln der Verdünnungsmethode. Emmerich[1]) hat zum Auswaschen der Luft den Apparat Fig. 40 angegeben. Ein birnförmiges Gefäss communicirt durch eine feine Oeffnung mit einer 70 bis 80 cm langen Glasröhre, welche in etwa 7 sanft ansteigenden parallelen Windungen zu einer Glaskugel führt. Der Apparat wird durch trockene Hitze sterilisirt, dann mit 20 bis 25 cm Nährlösung beschickt, mit sterilisirten Wattepfröpfen ge-

[1]) Archiv für Hygiene, I, 1883, S. 169.

schlossen und dann die Lösung durch Dampf sterilisirt. Der Aspirator wird mit der Kugel verbunden, deren Wattepfropf nicht abgenommen wird, während der Wattepfropf der Birne, bei der die Luft eintritt, am Orte der Entnahme entfernt und nach Abbrechen des Versuchs wieder aufgesetzt wird. Während der Aspiration geht die Luft in feinen Bläschen von der Eingangsöffnung aus auf langem Wege durch die Spirale, so dass sie in innigen Contact mit der Lösung kommt und ihre Keime an dieselbe abgibt.

Fig. 40.

Die Flüssigkeit, welche die Keime aus der Luft aufgenommen hat, wird gründlich geschüttelt zur Trennung in die einzelnen Keime, soweit dies überhaupt möglich ist, und gehörig gemischt, um die Keime möglichst gleichmässig in der Flüssigkeit zu vertheilen. Erwartet man relativ wenig Keime, so kann man die 20 ccm Lösung in 20 bis 50 Kölbchen vertheilen; vermuthet man viel Organismen, so muss man die Verdünnung weiter treiben. Für diesen Fall eignet sich recht gut die Versuchsanordnung von Fol, Fig. 22, S. 142. Bei dem Apparate von Miquel, Fig. 39, bringt man über f einen Kautschukschlauch mit Klemme und bringt die vorher noch einmal erwärmte Spitze a nach dem Abkühlen in den Kautschukschlauch der Klemme k der Fig. 22 (2). Bei dem Apparate von Emmerich, Fig. 40, bringt man über das birnförmige Gefäss einen Kautschukschlauch mit Klemme und führt nach Entfernung des Wattepfropfs die Röhre der Kugel in den Kautschukschlauch der Klemme k, Fig. 22 (2). Das Gefäss b der Versuchsanordnung von Fol, Fig. 22 (2), wird also ersetzt durch den Ballon von Miquel oder Emmerich. Bequemer ist es noch, wenn man die Waschflüssigkeit mit verflüssigter Nährgelatine oder mit Agar mischt und zur Verdünnung Plattenkulturen anlegt.

In der ersten Auflage hatte ich schon ein sehr bequemes Verfahren angegeben, um die Vortheile des Auswaschens der Luft durch Flüssigkeiten mit dem Isoliren der Keime durch gelatinirende Substanzen zu verbinden; ähnlich hatte ganz unabhängig von meinen Versuchen von Sehlen[1]) versucht,

[1]) Fortschritte der Medicin, 1884, No. 18.

die Keime aus der Luft durch bei 40° flüssig gehaltene Agarlösungen zu gewinnen. Diese sehr bequeme und recht zuverlässige Methode führe ich jetzt in folgender, wesentlich verbesserter Weise aus. Ein Reagirglas erhält den aufgeschliffenen Pasteur'schen Verschluss, Fig. 14 (1 und 2); der Helm B ist derart geschliffen, dass dessen Hals bei a fast den Durchmesser des Glases selbst besitzt. Dieses Reagirglas mit dem Helme wird zunächst für sich durch trockene Hitze sterilisirt, dann wird der Wattepfropf a durch einen, in Dämpfen sterilisirten Kautschukpfropf mit doppelter Durchbohrung ersetzt. In die eine Durchbohrung kommt eine rechtwinklig gebogene Röhre, welche dicht unter dem Propfe endigt, während in die andere eine rechtwinklig gebogene Glasröhre kommt, welche fast bis auf den Boden des Reagirglases reicht. Diese Glasröhren waren vorher durch trockene Hitze sterilisirt und ihre später nach aussen kommenden Enden mit Watte verschlossen. Diese Gläser werden zur Hälfte oder zwei Dritteln mit sterilisirter Nährgelatine oder Agar gefüllt und der Vorsicht halber noch einmal aufgekocht. Die Nährgelatine wird dann vor dem Versuche durch Einsetzen in ein Bad von 35 bis 40, die etwas unbequemere Agarlösung durch 40 bis 42° verflüssigt und während des Versuches flüssig gehalten, so dass sie wie eine Lösung wirken. Dann wird der Aspirator mit der kurzen Glasröhre verbunden und der Wattepfropf vom freien Ende der in die Gelatine eintauchenden Glasröhre entfernt und nach Abbrechen des Versuches wieder aufgesetzt. Die langen Glasschenkel zieht man dann aus der flüssigen Gelatine heraus, wobei kaum einige Tropfen Gelatine verloren gehen. Dann mischt und vertheilt man durch Schütteln die Keime so gut als möglich. Inzwischen werden Glasplatten in einem vorher angefeuchteten Kasten fertig gestellt und erst in diesem Kasten der Helm abgenommen und die Gelatine oder der Agar auf die Platten ausgegossen. Während man ohne den helmartigen Verschluss immer der Gefahr einer Verunreinigung am Rande des Reagirglases ausgesetzt ist, wird bei dieser Art des Vorgehens der Hals des Reagirglases während des ganzen Versuches überhaupt nicht berührt, so dass jede Gefahr von dieser Seite wegfällt. Operirt man in dem feuchten Kasten, so wird eine in diesem Falle sehr störende Luftinfection fast sicher vermieden. Bisweilen wird es

nöthig, mehrere derartige Gläser durch sterilisirte Kautschukschläuche zu verbinden und hin und wieder ist es vortheilhaft, statt der Reagirgläser Kölbchen mit demselben Verschlusse zu wählen. Will man nur sehen, ob überhaupt Bakterien in der Luft vorhanden sind und die Colonien nur annähernd zählen und erkennen, so lässt man die Gelatine im Reagirglase erstarren und verzichtet auf die Bequemlichkeiten der Plattenkultur.

VII. Die Bakteriologie als Lehrgegenstand.

Wenn die bis jetzt entwickelten Methoden zur Erforschung der Bakterien die Bedeutung gewinnen sollen, welche die Gesammtheit der Aerzte diesen Dingen zuspricht, so müssen unsere Hochschulen die Gelegenheit zum Erlernen dieses wichtigen Gebietes geben.

Bis jetzt geschieht dies aus Mangel an geeigneten Lehrkräften und Instituten aber noch in einer durchaus ungenügenden Weise. Der Universität Kopenhagen gebührt das grosse Verdienst bahnbrechend vorgegangen zu sein und im April 1883 im Anschlusse an das botanische Institut ein Institut für medicinische Bakteriologie, wenn auch in bescheidener Weise, eingerichtet zu haben, dessen Leitung sich in den bewährten Händen von Salomonsen befindet. Von den deutschen Universitäten bietet bis jetzt nur München im Anschlusse an das pathologische Institut, Göttingen und Berlin im hygienischen, Breslau und Strassburg im botanischen Institute Gelegenheit zur Erlernung der Methoden. Hierzu kommt noch die von mir geleitete hygienisch-bakteriologische Abtheilung des chemischen Instituts von Fresenius zu Wiesbaden, welche besondere Rücksicht auf die Lehrthätigkeit nimmt.

Der Eifer, mit dem aber an allen Hochschulen jetzt auf diesem Gebiete gearbeitet wird, würde unendlich fruchtbarer sein können und manches Fiasco wäre zur Unmöglichkeit geworden, wenn in einer den bestehenden Bedürfnissen genügenden Weise Gelegenheit zum Einarbeiten in den Methoden geboten wäre. Die Frage, wie solche Institute einzurichten sind, wird augenblicklich aus Mangel an geeigneten Lehrkräften und aus pecuniären Gründen wohl kaum in allseitig genügender Weise zu beantworten sein.

Die Botanik ist bei der Lösung vieler morphologischer und biologischer Fragen der Bakteriologie interessirt, seit das geflügelte Wort eines hervorragenden Botanikers so kläglich zu Schanden ge-

worden ist, dass ein ordentlicher Botaniker sich überhaupt nicht mit Bakterien beschäftige. Diese Fragen könnte man ruhig den botanischen Instituten überlassen, an denen ja kein Mangel vorhanden ist.

Die Physiologie kann sich bei dem gegenwärtigen Stande der Verdauungslehre unmöglich beruhigen, sondern muss den biologischen Prozessen im Darm eine ganz andere Beachtung schenken als bisher. Die Lösung dieser Aufgaben, welche sich zum Theil mit denen der Gährungsphysiologie decken, könnte man schliesslich den reich dotirten physiologischen und physiologisch-chemischen Instituten überlassen.

Auch die mit Instituten genügend versehene Pathologie wird nicht umhin können, unter den vielen „Reizen“, mit denen sie zu thun hat, den Bakterien als einem äusseren Reize grössere Beachtung zu schenken, als dies noch vielfach geschieht, und den Wechselbeziehungen zwischen den eindringenden Bakterien und den Zellen viel Aufmerksamkeit zu widmen.

Wem es bei der Bakterienforschung wirklich um die Sache zu thun ist, wird sich nur freuen, wenn der Gegenstand von den verschiedensten Seiten in Angriff genommen wird. Aber solche divergente Gesichtspunkte für die Forschung genügen nicht, wenn es sich darum handelt der Bakteriologie als Lehrgegenstand die gebührende Stelle zu geben.

Für eine definitive Gestaltung scheinen mir nur zwei Wege Aussicht auf dauernden Erfolg zu versprechen. Einmal könnte man besondere bakteriologische Institute errichten wie in Kopenhagen, oder man sollte diese Institute in Verbindung bringen mit den zu errichtenden hygienischen Instituten. Das letztere scheint mir der am meisten versprechende Modus zu sein.

Botanik, Physiologie und Pathologie haben immer nur an bestimmten Seiten der Forschung ein actuelles Interesse, während sie den übrigen Fragen viel gleichgültiger gegenüberstehen.

Für die Hygiene haben die botanischen Fragen ein eingehendes Interesse, weil die Stellung im Systeme, Artconstanz, Variabilität etc. ganz direct von Einfluss auf das hygienische Handeln werden können. Dieses botanische Interesse theilt die Hygiene zum Theil mit der Physiologie und Pathologie.

Die Hygiene muss die allgemeine Biologie der Bakterien genau kennen, weil die allgemeinen Zersetzungsvorgänge durch saprophytische Mikroorganismen für die Aetiologie von Bedeutung sind. Dieses Interesse theilt sie zum Theil mit der Botanik und Physiologie.

Die Hygiene muss mit den pathogenen Bakterien eingehend vertraut sein, weil dieselben für die Aetiologie nicht nur den Werth irgend eines externen „Reizes“ haben, sondern weil sie als conditio sine qua non einen Angelpunkt der ganzen Aetiologie bilden, auf welche die Pathologie nur in ungenügender Weise Rücksicht nehmen kann, weil die Vorgänge im Körper ihre Thätigkeit genügend in Anspruch nehmen.

Die Aufgaben, die experimentell eruirbaren Ermittelungen über die Krankheitsparasiten mit den Ergebnissen über die Hülfsursachen der epidemischen Krankheiten zu verbinden, die Hypothesen der Grundwasser- und Trinkwassertheorie an der Hand der Biologie der Mikroorganismen auf Thatsachen und nicht mehr ausschliesslich auf Reflexionen und Wahrscheinlichkeitsrechnung zu basiren, fallen der Hygiene allein zu und sind in genügender Weise nur zu lösen bei Beherrschung aller Seiten der Forschung, von welcher Botanik, Physiologie und Pathologie doch nur einzelne Theile genügend berücksichtigen.

Aus diesen Ueberlegungen scheint mir hervorzugehen, dass derjenige Wissenszweig, welcher aus inneren Gründen fortlaufend dem ganzen Gebiete Rechnung tragen muss, am ersten im Stande ist dem Gegenstande als Lehrgegenstand in vollem Umfange gerecht zu werden. Wie man von dem Hygieniker einer anderen Richtung verlangen muss, dass er sich mit der Bakteriologie soweit vertraut macht, um sie lehrend vortragen zu können, so muss man auch von dem mit der Hygiene betrauten Bakteriologen verlangen, dass er die anderen Kapitel der Hygiene zur Lehre genügend beherrscht. Die Hygiene kann und darf nicht in der Bakteriologie aufgehen und nichts würde verkehrter sein, als bei Besetzung von Lehrstellen der Hygiene nur die bakteriologische Richtung zu berücksichtigen. Aber als Lehrgegenstand dürfte die Bakteriologie, wenn man von besonderen Instituten absieht, sich am praktischsten mit der Hygiene vereinigen lassen.

Bei dem Unterrichte in den Methoden hat man selbstverständlich zwei Dinge auseinanderzuhalten: Die Einführung in die Methoden durch praktische Kurse und das selbstständige Arbeiten nach vorausgegangener Orientirung. Diese letztere Seite wird nur von wenigen specieller Interessirten gepflegt werden, muss aber bei der Einrichtung der Institute genügend berücksichtigt werden. Das eigentliche Tagesbedürfniss liegt zur Zeit aber mehr in den orientirenden Kursen. Jeder praktische Arzt, vor Allem jeder Medicinalbeamte hat den Wunsch, nachdem die morphologischen und biologischen Grundlagen der allgemeinen Zersetzungsvorgänge und der Aetiologie der Infectionskrankheiten durch Ausbildung der Methoden greifbarere Gestalt gewonnen haben, sich über diese Methoden soweit zu informiren, um den neueren Forschungen mit Verständniss folgen zu können.

Diese Kurse lassen sich in Form von etwa 4 bis 6 wöchentlichen praktischen Uebungen halten, in denen unter besonderer Rücksicht auf die hygienisch wichtigen Methoden an einigen Schulfällen die wichtigsten Methoden eingeübt werden. Dieser Modus dürfte zur Zeit allein im Stande sein den Bedürfnissen der Medicinalbeamten und Militärärzte zu genügen, welche nicht länger als einige Wochen abkommen können. Für den Lehrer ist dieser Modus weit weniger angenehm, als wenn er die praktische Einführung in die Methoden über ein Semester vertheilen kann.

Dieser letztere Modus, der für die jüngeren Mediciner und Naturforscher, welche nicht ihre ganze Zeit einem Gegenstande widmen können, sich zur Regel ausbilden muss, gestattet dem Lehrer alle Methoden zu berücksichtigen und dadurch den Blick für die Entwickelung und die zukünftigen Aufgaben der Forschung zu schärfen. In Folge dessen wird diese Art der Einführung in die Methoden zu einem eminenten Lehrmittel, welches für das selbstständige Arbeiten ausgiebig vorbereitet und bewirken kann, dass allmählig die voreiligen Mittheilungen auch in der Bakteriologie ganz verschwinden.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

Fig. 1. Objectträgerkultur von Milchsäurebakterien im durchfallenden Lichte in natürlicher Grösse; Text S. 155. Die kleinen weissen Punkte zeigen das isolirte Wachsthum im Impfstriche im Inneren der Gelatine, während die grösseren sich berührenden kreisförmig begrenzten Flecken und breiten Streifen das Oberflächenwachsthum auf der Gelatine erkennen lassen.

Fig. 2. Kartoffelkultur; Text S. 121. In Folge missverständlicher Auffassung wurde die Zeichnung leider auf den Maassstab der Nebenfigur reducirt. In den Impfstrichen a haben sich die Bakterien, m. prodigiosus, zu breiten Streifen ausgebildet und nur wenige isolirte Colonien sind noch deutlich. Bei b hat sich von einem Impfstiche aus eine grössere kreisförmige Colonie entwickelt. Bei c und d wächst von der Schale her der sog. Kartoffelbacillus auf die Scheibe und berührt bei d die Reinkultur.

Fig. 3. Theil des Impfstriches von b. lactis bei ca. 20 facher Vergrösserung. Die Colonien 1 im Inneren der Gelatine sind meist noch gut isolirt. Die aus einem Luftkeime entstandene Colonie 2 ist an einer Stelle über dem Impfstrich hinübergewachsen.

Fig. 4. Plattenkultur in natürlicher Grösse; Text S. 159. Die Colonien sind bei Zimmertemperatur aus 1 ccm Wasser gewachsen. Die Colonien 1 verflüssigen die Gelatine schnell; die Colonien 2 verflüssigen langsam trichterförmig; die Kokkenart 3 wächst an der Oberfläche in Form porzellanartig glänzender Köpfchen und die Colonien 4 zeigen im Inneren der Gelatine ein langsames Wachsthum, so dass diese Differenzen mit Leichtigkeit gestatten, trotz der grossen Menge der Colonien mindestens 4 Arten zu trennen. Bei vielen der sich schnell ausbreitenden Colonien 1 sieht man überwucherte andersartige Colonien durchschimmern; bei 1a berühren sich zwei Colonien der Art 1; bei 1b hat eine Colonie von 1 eine Colonie von 3 berührt. Bei 2a berührt sich eine Colonie von 2 mit einer von 3; bei 3a haben sich Colonien von 3 und 4 vereinigt.

Taf. I.

Fig. 1.

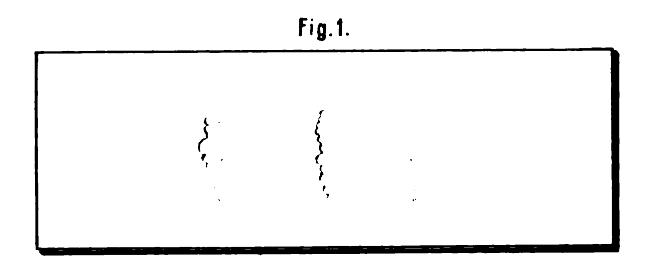


Fig. 2. Fig. 3.

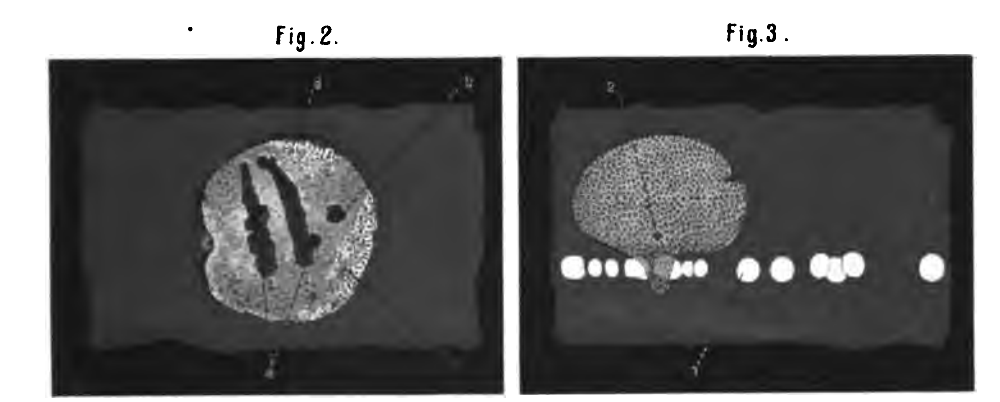
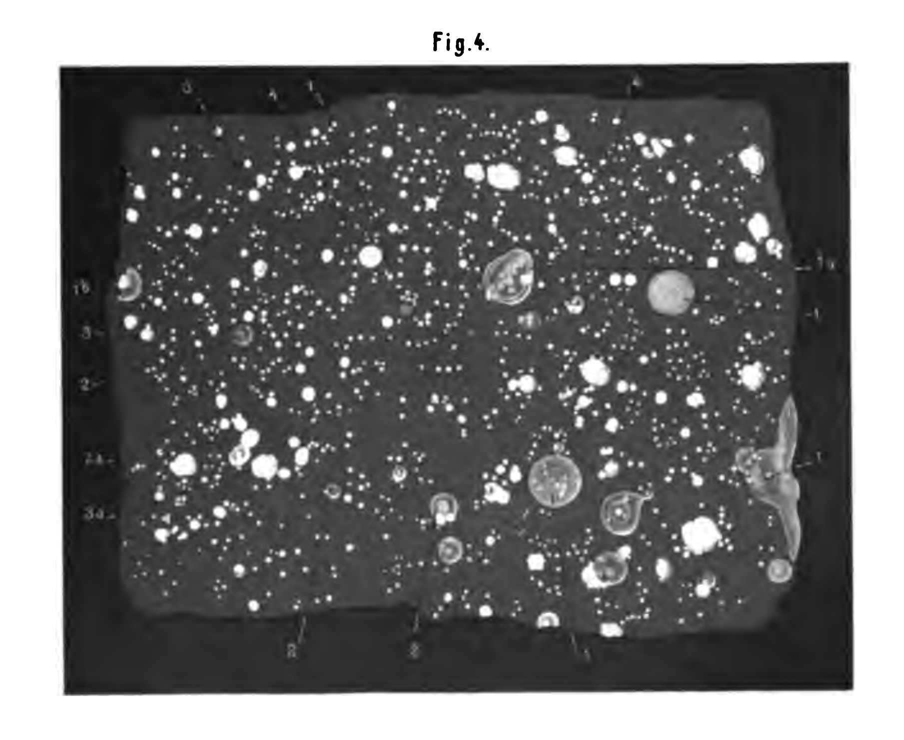


Fig. 4.



Erklärung der Abbildungen.

Tafel II.

Fig. 5. Stichkultur in Gelatine, Text S. 164. Kokken der Pneumonie; an der Oberfläche haben sich stark prominirende glänzende weisse Köpfchen gebildet, während im Impfstiche nach unten zu noch isolirte Colonien sich finden. Die Gelatine hat in den oberen Parthien einen bräunlichen Ton angenommen.

Fig. 6. Stichkultur eines stinkende Eiweissfäulniss verursachenden Bacillus. Im Impfstiche hat sich eine moosartige, verzweigte Zoogloea a ausgebildet. Die Verflüssigung schreitet schichtenweise vor unter Trübung der verflüssigten Gelatine. An der Grenze zwischen fester und flüssiger Gelatine findet sich bei b eine Schicht von Bakterien, während sich an der Oberfläche bei c eine feine Decke von Bacillen bildet.

Die Figuren 1 bis 6 sind unter Zugrundelegung von Photogrammen gegeben, so dass die Objectivität der Photographie mit dem natürlichen Aussehen möglichst treu wiedergegeben ist.

Fig. 7. und 8. Reinkulturen von Tuberkelbacillen auf erstarrtem Blutserum nach Koch; Text S. 172. Das Serum ist in den untersten dicken Schichten bei a nur eben durchscheinend, in den oberen dünnen Schichten bei a vollständig klar; das Condensationswasser hat sich im unteren Theile zwischen b und b^1 angesammelt. In der Fig. 7, der Profilansicht, sieht man wie die Kultur bei Berührung der Flüssigkeit bei b^1 auf diese in Form eines Häutchens übergreift.

Fig. 9. Tuberculöses Sputum; Text S. 68. Die Tuberkelbacillen blau, die Kerne und übrigen Bakterien, Kokken in Ketten und Tetraden und Stäbchen, braun.

Fig. 10. Sporenfärbung; Text S. 85. Die Sporen der Milzbrandbacillen roth, die relativ jungen Stäbchen kräftig, die älteren Fäden schwach blau gefärbt.

Fig. 11. Doppelfärbung eines Schnittes; Text S. 101. Miliartuberkulose. Riesenzelle mit blau gefärbten Tuberkelbacillen.

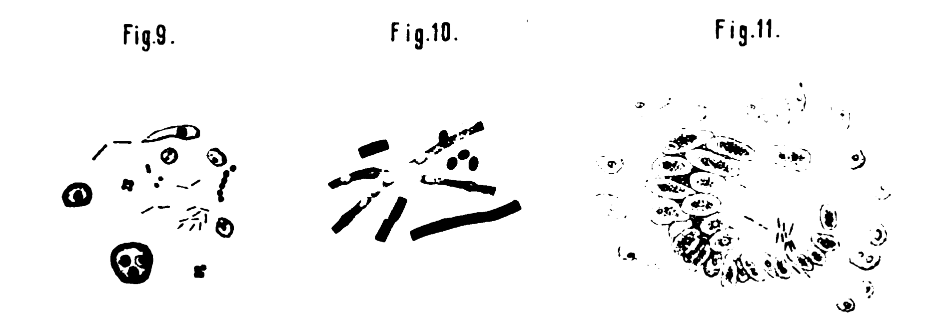
Fig. 5. Fig. 6. Fig. 7. Fig. 8.

c
b
a

a'
b'
a
b

a'
c
b'
b
a

Fig. 9. Fig. 10. Fig. 11.



DIE

FORMEN DER BAKTERIEN

UND IHRE BEZIEHUNGEN

ZU DEN

GATTUNGEN UND ARTEN.

VON

DR. FERDINAND HUEPPE,

Docent der Hygiene und Bakteriologie am chemischen Laboratorium von R. Fresenius zu Wiesbaden.

MIT 24 HOLZSCHNITTEN.

WIESBADEN.

C. W. KREIDEL'S VERLAG.

1886.

Druck von Carl Ritter in Wiesbaden.

HERRN

DR. FERDINAND COHN,

PROFESSOR DER BOTANIK IN BRESLAU

UND

HERRN

DR. ANTON DE BARY,

PROFESSOR DER BOTANIK IN STRASSBURG

HOCHACHTUNGSVOLL

GEWIDMET.

Vorwort.

Seit Jahren herrschen auf dem Gebiete der Morphologie der Bakterien die schroffsten Gegensätze, ohne dass bisher eine gegenseitige Verständigung möglich war. Die Stellungnahme zu den Theorien über die allgemeine Morphologie hat mehr als direct ermittelte Thatsachen die Ansichten bestimmt, so dass Schroffheiten und fortwährende Missverständnisse kaum zu vermeiden waren.

Allmählich scheinen mir aber die auf diesem Gebiete selbst ermittelten Thatsachen so weit gediehen, um eine erneute Prüfung zu gestatten. Ohne etwas Kritik geht es dabei freilich nicht ab, wenn man auf Grund eigener eingehender Untersuchungen und Beobachtungen ein Material zu sichten versucht, bei dem die wichtigsten morphologischen Ermittelungen oft nur nebenbei in physiologischen und pathologischen Arbeiten erwähnt sind, während manche als morphologische angekündigte Mittheilung mehr über Biologie als über Morphologie zu berichten wusste.

Eine Klärung und Verständigung über die morphologischen Grundlagen ist aber in der Bakteriologie von einschneidender Bedeutung für die biologischen Fragen und schon jetzt hat manche wichtige physiologische und pathologische Controverse ihren wissenschaftlichen Abschluss erst durch eine gründliche morphologische Untersuchung gefunden.

Je mehr Klarheit in den Grundzügen herrscht, um so leichter wird sich aber auch eine Verständigung in Einzelheiten anbahnen, und ich hoffe mit diesem Versuche etwas zur Klärung und gegenseitigen Verständigung beizutragen.

Wiesbaden, November 1885.

Der Verfasser.

Inhaltsverzeichniss.

I.

Die älteren Anschauungen über die Bakterien. Sind die Bakterien Thiere oder Pflanzen? Sind specifische Trennungen unter denselben möglich?

Die ersten Zeiten nach der Entdeckung der Mikroorganismen durch Leeuwenhoek, 1675, waren Speculationen über die Herkunft dieser Organismen, über Beziehungen zu Seuchen und über ähnliche Fragen gewidmet, zu deren Entscheidung die mangelhaften Instrumente und dürftigen Experimente keinerlei thatsächliche Anhaltspunkte lieferten. Auch der erste Versuch einer Classificirung auf morphologischer Grundlage durch Will, 1752, brachte noch wenig Positives zu Tage. Wichtiger wurde der besser motivirte Classificirungsversuch von Otto Friedrich Müller dadurch, dass er 1773 bis 1786 unter den Infusorien auch die Mikroorganismen berücksichtigte, welche wir jetzt Bakterien nennen. Wenn auch die Einzelheiten seiner Eintheilung kaum noch Interesse bieten können, so ist es doch immerhin nicht unwichtig zu wissen, dass ein grosser Theil der noch jetzt geläufigen Namen damals von Müller eingeführt wurde. Bezeichnungen wie Monas, Bakterium, Proteus, Vibrio, und unter diesen: Vibrio rugula, Vibrio bacillus, Vibrio spirillum finden sich von jetzt ab in der Litteratur. Auch Bory de Saint-Vincent, 1824 bis 1831, brachte noch keine principiellen Fortschritte, trotz einiger Berichtigungen in Einzelheiten.

In dieser ganzen früheren Periode wurde in Folge der ungenügenden optischen und experimentellen Hülfsmittel die morphologische und biologische Seite der Frage immer durcheinander geworfen und die Theorien waren im Gegensatze zu den dürftigen Thatsachen die denkbar grossartigsten. Unter diesen Anschauungen

will ich nur einige anführen, welche sich zum Theil bis in unsere Tage, wenn auch mit Aenderungen, erhalten haben, oder solche, deren Prüfung zugleich zu thatsächlichen Fortschritten geführt hat.

Eine mutterlose Entstehung aus anorganischen Urstoffen schien die Räthsel der ersten Entstehung des Lebens dem Experimente und dem Mikroskope zugänglich zu machen und zu lösen. Solchen an der Grenze zwischen Anorganischen und Organischen in Infusen entstandenen Urwesen sollte dann „ein grenzenloser, proteischer Formenwechsel des Körpers“ zukommen. Diese proteusartige Natur sollte sich darin weiter äussern können, dass eine „Verwandlung, Metaschematismus, aller in alle anderen Infusionsformen“ stattfindet oder dass aus den Infusorien sogar die Formen der Pilze und Flechten hervorgehen. Bei dieser Umwandlung der Infusorien in Pflanzen, sollten äussere Einflüsse das Bestimmende sein.

Seit den grundlegenden Versuchen von Spallanzani, 1776, war die experimentelle Forschung mit Erfolg bemüht, Licht in diesem dunklen Gebiete zu verbreiten. An der Hand immer mehr verfeinerter und vereinfachter Versuche konnte man die generatio spontanea mehr und mehr zurückweisen und erkennen, dass alle bis jetzt bekannten kleinsten Lebewesen aus specifischen Keimen hervorgehen.

Auf morphologischem Gebiete glaubte dann Ehrenberg[1]), 1830 bis 1838, den Beweis für die Haltlosigkeit der Lehre von der Urzeugung führen zu können durch die Mittheilung der Erforschung einer hohen Organisation der Infusorien, an der auch die Bakterien participiren sollten. Die Infusorien wurden von Ehrenberg in Tribus, Gattungen und Arten nach Formmerkmalen eingetheilt, und speciell unsere heutigen Bakterien wurden bei verschiedenen Familien untergebracht.

I. Familie Monadina.

Gattung Monas.

Gruppe I. Kugelmonaden, Sphaeromonades.

α) Punktmonaden;

β) Eimonaden.

1) Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen. 1838.

Gruppe II. Stabmonaden, Rhabdomonas, umfasst alle nicht deutlich gegliederten Bakterien, darunter:

α) die an beiden Enden gleichmässig abgerundeten, cylindrischen Stabmonaden;

β und γ) die an einem Ende zugespitzten, am anderen abgerundeten Kegel und Kreiselmonaden;

δ) an beiden Enden verdünnten Spindelmonaden.

III. Familie Cryptomonadina.

Die Gattung Ophidomonas, welche man jetzt in genetische Beziehungen zu den Bakterien bringt.

IV. Familie Vibrionia.

Gliederfäden (Monadenstöcke) als gradlinige Körper (durch rechtwinklige Quertheilung)	unbiegsam		Bakterium.
	schlangenförmig biegsam		Vibrio.
als spiralförmig gekrümmte Körper (durch schiefe? Quertheilung)	gewundene Gliederfäden, biegsam		Spirochaeta.
	gewundene Gliederfäden, unbiegsam	cylindrisch gedehnte Spiralform	Spirillum.
		scheibenartig gedrängte Spiralform	Spirodiscus.

Dujardin[1]) berichtigte viele Irrthümer Ehrenberg's über die Infusorien und wies auch speciell die angebliche Organisation der Bakterien zurück. Auch Dujardin bringt noch nicht alles, was wir jetzt zu den Bakterien rechnen, unter seinen Vibrionen unter. Unter den Vibrionen Dujardin's ist die Gattung Bakterium dadurch charakterisirt, dass die mehr oder weniger deutlich gegliederten starren Fäden nur eine zitternde, keine schlängelnde Bewegung zeigen. Die Gattung Vibrio hat schlangen- oder wellenförmig biegsame Fäden. Die dritte und letzte Gattung, Spirillum, bildet Fäden in Schraubenform.

Bei diesen Eintheilungen von Ehrenberg und Dujardin handelte es sich darum, scharfe, constante Formmerkmale zu finden, um die Vibrionia gegen die übrigen Infusorien abzugrenzen und die Genera innerhalb dieser Gruppe zu unterscheiden. Ehrenberg

[1]) Histoire naturelle des Zoophytes. Infusoires 1841.

fand die Vibrionia dadurch charakterisirt, dass er die Fäden als zusammengesetzt aus isodiametrischen Gliedern auffasste, l. c. S. 74, „Zitterthierchen sind Monadinen, welche, durch quere unvollkommene Selbsttheilung, bewegte Gliederfäden bilden". „Die fadenförmigen, sehr zarten Körper nämlich sind nicht Einzelthiere, sondern kettenartige Monadenstöcke und jedes der schwer sichtbaren Gliederchen der Kette ist offenbar erst ein Einzelthierchen. Der Grund dieser Ansicht liegt darin, weil diese Formen nie eine bestimmte Länge oder Gliederzahl besitzen, und weil gleichzeitig mit sehr langen sehr kurze vorhanden zu sein pflegen und so kurze, dass sie bis aus nur 2 bis 3 Gliedern bestehen, die man von Monas termo und crepusculum gar nicht anders als durch die Gesellschaft und eine etwas eigenthümliche, schwer zu charakterisirende Bewegung unterscheiden kann."

Dujardin erkennt eine solch bestimmt ausgesprochene Zusammensetzung nicht an und rechnet wegen des Gesammthabitus viele Formen zu den Vibrionen, die Ehrenberg wegen mangelnder Segmentirung bei der Gattung Monas unterbrachte. Von einer scharfen Abgrenzung gegen andere Mikroorganismen ist demnach bei beiden Forschern noch keine Rede und die scheinbar so leichte Scheidung der einzelnen Gattungen der Vibrionia unter einander, der starrfädigen Bakterien von den wellenförmig biegsamen Vibrionen und den schraubigen Spirillen, gestaltet sich in der Praxis derart, dass fortwährend Verwechslungen vorkommen. Einig sind beide Forschern mit allen ihren Vorgängern darüber, dass die Bakterien zu den Thieren gehören. Doch findet sich schon bei Ehrenberg ein Bedenken angedeutet, indem er l. c. S. 77 meint „Der Vibrio Bacillus aus dem Zahnschleime des Menschen, welcher aber kein Thier zu sein scheint und den ich oft passiv, aber nie sich activ bewegen sah, würde, im Falle er thierisch wäre, Bakterium Bacillus zu nennen sein." Dies ist das erste Dämmern einer neuen Auffassung, welche ein physiologisches Criterium als ungenügend zur Entscheidung morphologischer Fragen betrachtet, auch wenn dasselbe noch so frappant ist, wie die scheinbar willkürliche Bewegung vieler Bakterien.

Das Verdienst, diesen principiellen Fortschritt angebahnt zu

haben, gebührt Perty.[1]) Die Vibrionida, die einfachsten aller Phytozoidien, sind nach ihm die „wahren Elementarorganismen", besitzen wahrscheinlich keine weitere Organisation und entstehen „aus Anfängen, welche verschwindend klein sind." „Die einzelnen Individuen sind sphäroidisch oder ellipsoidisch, vermehren sich durch Quertheilung und bilden, indem sie hierbei gewöhnlich zusammen bleiben, Ketten, die entweder gerade oder wie ein Korkzieher gewunden sind". Die Vibrioniden bewegen sich nach Perty nicht willkürlich, sondern automatisch „nach dem Typus der Oscillarieen". „Die Vibrioniden können von den Botanikern mit eben so grossem Rechte zum Pflanzenreiche und zwar zu den niedrigsten Algen gerechnet werden, als die Oscillatorien und Spirulinen".

Die Vibrionida theilt Perty, l. c. S. 179, ein:

A. in Spirullina. Ketten oder Fäden spiralgewunden; mit den Unterabtheilungen Spirochaeta und Spirillum;

B. Bakterina. Die Fäden geschlängelt oder gerade. Als Unterabtheilungen Vibrio, Bakterium, Metallacter (Bacillus), Sporonema.

Auch Cohn[2]) findet fast gleichzeitig die Verwandtschaftsbeziehungen der Bakterien, ebenso wie Perty, nicht bei den Thieren. „Die Bakterien (Vibrionen) scheinen alle in's Pflanzenreich zu gehören, weil sie eine unmittelbare und nahe Verwandtschaft mit offenbaren Algen bekunden."

Durch die Untersuchungen von Perty und Cohn war der Schwerpunkt der morphologischen Forschung auf eine vergleichende Prüfung der gesammten Formverhältnisse der Bakterien hingewiesen. Nichtsdestoweniger wurde von den meisten Forschern, welche die Bakterien nicht mehr zu den Thieren sondern zu den Pflanzen rechneten, ein einziges physiologisches Merkmal, der Mangel an Chlorophyll, für so wichtig gehalten, dass man trotz des Mangels morphologischer Verknüpfungspunkte die Bakterien mit Nägeli lieber unter dem Namen Spaltpilze zu einer selbstständigen Abtheilung der Pilze machte, wie man dieselben früher wegen eines anderen physiologischen

---

1) Zur Kenntniss kleinster Lebensformen, 1852, S. 104.

2) Nova Acta Acad. Car. Leop. XXIV, 1853, I, S. 130.

Merkmales, der Bewegung, zu den Thieren gerechnet hatte. In dieser Auffassungsweise ist wohl auch eine der Ursachen zu suchen, dass später Hallier und seine Anhänger die Bakterien in directe ontogenetische Beziehungen zu den Schimmelpilzen bringen konnten. Diese letzteren Beziehungen wurden von de Bary, van Tieghem, Cohn, Burdon-Sanderson, Nägeli zurückgewiesen und damit die Auffassung wieder angebahnt, dass die Bakterien eine Pflanzen-Familie für sich bilden.

Unter den Forschern, welche daran festhielten, dass die Bakterien eine gesonderte Grüppe des Pflanzenreiches, gleichgiltig ob den Pilzen oder Algen näher stehend, bilden, machten sich dann zwei Richtungen bemerkbar. Die eine hielt daran fest, dass die Formen der Bakterien zugleich gute Artmerkmale bilden und eine Trennung der Bakterien in Arten und Gattungen nach der Form möglich ist. Die Auffassung von Ehrenberg, dass alle Bakterien, die geraden, welligen und schraubigen Fäden aus isodiametrischen Gliedern zusammengesetzt sind, bahnte die andere Richtung an, deren erster Vertreter Perty in sofern ist, als er zuerst bestimmt erklärte, dass die gerade oder schraubige Form der Kette nur von der Art des Verbandes der sphärischen oder ellipsoiden Einzelzellen herrührt. Sehr entschieden wurde die Auffassung, dass Arten im gewöhnlichen Sinne bei den Bakterien nicht vorkommen und im Bereiche derselben keine Rede von specifischen Fermenten sei, von H. Hoffmann [1]) vertreten.

---

[1]) Botanische Zeitung 1869, No. 15 bis 20.

II.

Unterscheidung zwischen naturhistorischen Arten, Formarten und physiologischen Arten. Unmöglichkeit nach einer Form Arten zu bestimmen. System von F. Cohn.

Von der ganzen bisherigen Betrachtungsweise wich zuerst Cohn[1]) ab. Seine Untersuchungen, welche er zum Theil in Verbindung mit Schröter[2]) unternommen hatte, führten ihn zu der Ansicht, „dass die Bakterien sich in ebenso gute und distincte Arten gliedern, wie andere niedere Pflanzen und Thiere.“ Bei dem Versuche der Abgrenzung solcher distincter Arten wurde Cohn durch die „ausserordentliche Kleinheit, das meist gesellige Zusammenwohnen verschiedener Species, sowie die Varabilität der Arten“ sehr gehindert. Zwei Beobachtungen waren es, welche ihm trotzdem die Möglichkeit eröffneten, die Artabgrenzung nach morphologischen Gesichtspunkten durchzuführen. Dies war einmal die Thatsache, dass die von ihm untersuchten Bakterien in bestimmten Medien immer in bestimmter typisch wiederkehrender Form sich zeigten und dass ferner Eigenthümlichkeiten der Formen der Einzelindividuen durch das Zusammensein vieler Einzelindividuen deutlicher wurden. Bei dem Zusammenhang vieler Einzelzellen machten sich dann durchgreifende Unterschiede bemerkbar, indem einzelne Bakterien in unregelmässiger Weise Schleimfamilien bildeten, während andere in Ketten- oder Fadenform zusammen blieben.

Die Formen der Einzelzellen von Kugeln, Ellipsoiden, Kurzstäbchen, Langstäbchen, geraden oder gebogenen Stäbchen und Schrauben genügen allein nicht zur Bestimmung von Gattungen und Arten, aber ebensowenig genügt allein die Kenntniss der Verbindungsweise der Einzelindividuen zu Gallertmassen oder Fäden. Beide Momente müssen gleichmässig berücksichtigt werden und

[1]) Untersuchungen über Bakterien. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, I. Heft, 2, 1872, 2. Abdruck 1881. S. 127.

[2]) Ueber einige durch Bakterien gebildete Pigmente, ibid. S. 109.

ausserdem hat Cohn nicht vergessen, darauf aufmerksam zu machen, dass jedes Einzelindividuum bei seiner Entwicklung zu der typisch wiederkehrenden Form kleine Formabweichungen durchmacht. Aber auch unter Berücksichtigung aller dieser Formmerkmale zusammen vermag Cohn noch keine naturhistorischen Species abzugrenzen, er kommt „nicht immer zu natürlichen, sondern höchstens zur Aufstellung von Formspecies" und weiter muss er es sogar unentschieden lassen, in wie weit diese Formmerkmale „ursprünglich verschiedenen Arten zugehören, in wie weit sie von äusseren Umständen abhängig, in den Variationskreis einer Art fallen oder gar nur Entwicklungszustände des nämlichen Wesens sein können."

Um bei den ungenügenden Hülfsmitteln bis zum Verwechseln ähnliche Formen und Formverbände auseinander zu halten, half sich Cohn damit, dass er derartige Bakterien interimistisch nach ihren Wirkungen in chromogene, zymogene und pathogene Arten unterschied. Die Aufstellung solcher physiologischer Arten geschah in der Erwartung, dass die weitere Forschung auch noch „morphologische Verschiedenheiten werde erkennen lassen, welche die Annahme primärer Artverschiedenheiten begründen."

Nachdem Cohn alle diese Möglichkeiten in Rechnung gezogen hatte, verwahrte er sich sehr entschieden dagegen schon damals, „die Grenzen zwischen natürlichen Arten, Formspecies, physiologischen Arten oder Rassen festzustellen" und erklärte, dass es noch nicht an der Zeit sei, „auf diese Fragen eine abschliessende Entscheidung zu geben" und dass noch zu prüfen sei, „ob und welche dieser Formgattungen und Arten etwa im entwicklungsgeschichtlichen Zusammenhang stehen." Aber wie auch die Entscheidung ausfallen möge, „jedenfalls verhält sich, nach seiner Meinung, die Sache nicht so, dass ein und derselbe Bakterien-Keim, je nachdem er in Harn oder Wein geräth, diesen alkalisch, jenen fadenziehend macht, oder dass dieselbe Bakterie hier Buttersäure bilden, dort Milzbrand übertragen, hier einen rothen Fleck auf einer Kartoffel, dort Diphtherie in der Luftröhre eines Menschen hervorrufen kann."

Die erste Gruppirung der Bakterien in Formgattungen wurde nun von Cohn in der bekannten, formell sich an Ehrenberg's

Gruppirung anschliessenden, aber sehr oft missverstandenen Weise durchgeführt.

Tribus I. Sphaerobakteria; Kugelbakterien.
Gattung 1: Mikrokokkus.
Tribus II. Mikrobakteria; Stäbchenbakterien.
Gattung 2: Bakterium.
Tribus III. Desmobakteria; Fadenbakterien.
Gattung 3: Bacillus.
Gattung 4: Vibrio.
Tribus IV. Spirobakteria; Schraubenbakterien.
Gattung 5: Spirillum,
Gattung 6: Spirochaete.

Die Namen Mikrokokkus, Bakterium, Bacillus, Vibrio, Spirillum, Spirochaete bezeichnen bei Cohn nur Gattungen und keine Wuchsformen. Für Cohn ist ein Mikrokokkus nicht einfach eine kuglige oder ellipsoide Zelle, Bakterium ist kein Kurzstäbchen, Bacillus kein Langstäbchen. Von einer starren Form der Einzelzellen weiss Cohn nichts; er giebt ausdrücklich an, dass „vor der Theilung die Zellen sich erst in der Längsachse nahe auf das Doppelte ihrer normalen Länge strecken.“ Die Form der Einzelzelle muss sich demnach im Laufe der Ontogenese ändern, nur tritt in diesem mehr oder weniger beschränkten Entwicklungskreise eine Form immer typisch wieder auf und in diesem, aber auch nur in diesem Sinne nennt Cohn seine Formgattungen nach der charakteristischsten Form der Einzelindividuen.

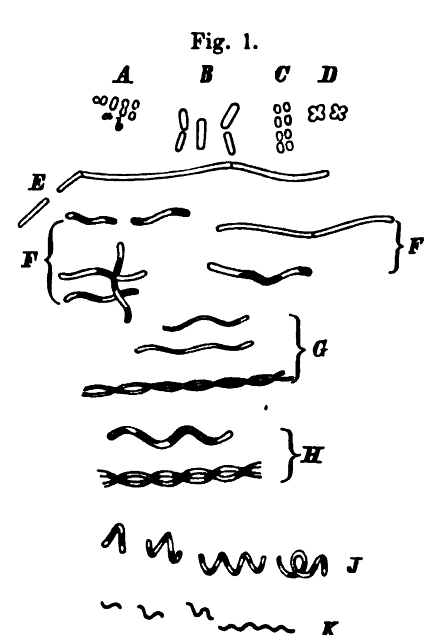
Die Tribus Sphaerobakteria und Mikrobakteria sollen nach Cohn das gemeinsam haben, dass ihre Einzelindividuen sich zu Schleimfamilien vereinigen, im Gegensatz zu den beiden anderen Tribus, deren Einzelindividuen sich zu Fäden verbinden oder in Fäden auswachsen können.

Gleichgültig wie auch die Veränderungen durch die normale Entwicklung sind, so sind unter den Arten der Gattung Mikrokokkus die einen dadurch ausgezeichnet, dass die typisch wiederkehrende Form die einer Kugel ist, während sie bei anderen ein Ellipsoid, Fig. 1, C., sein kann. Zur Bestimmung der Gattung Mikrokokkus von Cohn gehört demnach die Kenntniss von zwei Wuchs-

formen, der Einzelzellen von kugliger oder ovaler Gestalt und der Verbindung der Einzelindividuen zu einer Zoogloea.

Bei der Gattung Bakterium kommen als typisch wiederkehrende Formen der Einzelindividuen je nach den Arten elliptische, kurzcylindrische und längere cylindrische Zellen vor; die Fig. 1 A zeigt z. B. bei a das kurzcylindrische, fast ellipsoide Stäbchen von Bakterium termo, während b die Form während der Theilung darstellt, durch welche zunächst kurze, ellipsoide Zellen gebildet werden; ausserdem finden sich aber auch kleine kuglige Zellen, welche wahrscheinlich in die Entwicklung derselben Form gehören; B zeigt die deutlichen Stäbchen von Bakterium lineola von Cohn. Eine scharfe Abgrenzung der Gattung Mikrokokkus von der Gattung Bakterium auf Grund der Formen der Einzelzellen vermochte Cohn nicht durchzuführen; es giebt keine Grenze zwischen ellipsoiden Mikrokokken und ellipsoiden Bakterien und ebenso können die stäbchenförmigen Bakterien „mit einzelnen Gliedern der Fadenbakterien“ leicht verwechselt werden. Die Berechtigung zur Aufstellung der Gattung Bakterium und die Möglichkeit ihrer Abgrenzung gegen die Gattung Mikrokokkus fand Cohn darin, dass die Bakterien im Gegensatze zu den unbeweglichen Mikrokokken zeitweilig lebhaft beweglich sind und ihre Zoogloea etwas anders aussieht; die Abgrenzung gegen die Bacillen wurde dadurch ermöglicht, dass die Bakterien keine Fäden, sondern eine Zoogloea bilden. Zur Gattung Bakterium von Cohn gehören also zwei Wuchsformen, die der Einzelzellen von

Fig. 1.



Nach Cohn. A Bakterium termo. B Bakterium lineola. C Tetrado (Sarcine) aus Blut. D von Ei. E Bacillus subtilis. F Vibrio rugula. G Vibrio s. Spirillum serpens. H. Spirillum volutans. J Spirillum undula. K Spirillum tenue.

ellipsoider oder stäbchenförmiger Gestalt und die Vereinigung der Einzelindividuen zu einer Zoogloea.

In Betreff der beiden letzten keine Zoogloea bildenden Tribus macht Cohn zunächst die allgemeine Angabe: „Die Zahl der zu einem Faden verbundenen Gliederzellen ist verschieden und hängt theils von der specifischen Natur, theils von äusseren Verhältnissen ab.“ Entgegen der Ansicht von Ehrenberg und Perty, dass alle Desmobakteria und Spirobakteria aus isodiametrischen oder kurz scheibenförmigen Gliedern bestehen, findet Cohn auch bei den grösseren Spirillen trotz Eintrocknen und Reagentien wie Jod und Alkohol eine derartige Stuctur nicht, „ohne aber die Möglichkeit in Abrede zu stellen, dass die fadenförmigen Bakterien aus solchen kurzen Gliedern bestehen.“ Er selbst beobachtete nur die nach den Arten verschieden langen, cylindrischen Stäbchen, z. B. Fig. 1, E, „in welche bei der Theilung die Fäden zerbrechen können.“ Es ist demnach bei Cohn gar keine Rede davon, dass jeder noch so lange Faden einzellig ist, sondern nur gesagt, dass auf der Höhe der Entwicklung Fäden, welche später in ihre Einzelglieder zerfallen, einen einheitlichen Eindruck machen können und es wurde von ihm nur direct die Ansicht zurückgewiesen, dass alle Bakterien trotz des heterogensten Habituseindruckes nichts weiter sein sollen als Verbände einer einzigen oder doch höchstens von zwei Wuchsformen, der isodiametrischen oder kurzcylindrischen Zellen.

Von den Fadenbakterien bestehen nun nach Cohn die Bacillen aus je nach der Art bald kürzeren, bald längeren „cylindrischen Gliedern, welche, wenn sie isolirt vorkommen, dem Bakterium lineola ähnlich sind, durch Quertheilung aber vermehrt, sich zu längeren oder kürzeren Ketten oder Fäden auseinanderreihen.“ Die Länge dieser Fäden hängt „von der Länge und der Zahl der zur Kette verbundenen Glieder“ ab. Im Gegensatze zu den Ketten von Kokken zeigen die Ketten der Bacillen, wie Fäden, äusserlich keinerlei Gliederung, sie sind „nicht an den Gelenken eingeschnürt.“ Von Bacillus subtilis, Fig. 1, E, sagt Cohn z. B. l. c. S. 175: „Die Fäden sind sehr dünn und zart, so dass die Grenze der Gliederungen nicht leicht erkannt wird; nur bei der Quertheilung und beim Lostrennen der Stücke überzeugt man sich, dass die einzelnen Glieder

in der Regel 6 Mikrom. lang sind; wir finden diese bald isolirt, und dann von denen des Bakterium lineola (Fig. 1, B.) schwer zu unterscheiden; gewöhnlich aber Doppelglieder von 12 Mikrom., oder zu dreien (dann 16 Mikrom. lang), und in längeren Reihen; ich habe Fäden von 26, 40, 66 und selbst von 132 Mikrom. Länge gemessen; letztere mögen vielleicht aus mehr als 20 Gliedern bestehen." Später gibt Cohn bei Gelegenheit einer anderen Untersuchung[1]) an: „Obwohl die Bacillusfäden selbst unter starken Vergrösserungen scheinbar ungegliedert sind, so ist dies in Wirklichkeit doch nicht der Fall; die einzelnen Glieder, aus denen die Fäden bestehen, sind etwa viermal so lang als breit." Abgesehen davon, dass Cohn auch bei den Bacillen die durch die normale Entwicklung bedingten Formabweichungen ausdrücklich anführt, gehörten auch, wenn man nur die typischen Formen berücksichtigt, zur Charakteristik der Gattung Bacillus zwei Wuchsformen, die nach den Arten wechselnden Einzelstäbchen und die Verbindung derselben zu Fäden.

Die Gattung Vibrio bildet nach Cohn wellenförmig gebogene Fäden, deren Einzelzellen dadurch von den Einzelindividuen der Bacillen unterschieden sein sollen, dass sie eine deutliche Bogenkrümmung besitzen. Es könnte hiernach scheinen, als habe Cohn unter den Einzelgliedern der Vibrionen einfach gekrümmte Stäbchen verstanden. Seine weiteren Ausführungen machen diesen Schluss aber wieder etwas fraglich. Wenn auch die Bewegung der Einzelindividuen den „Eindruck eines in Bewegung gesetzten Centrumbohrers" macht, so sollen doch die „formbeständigen Wellenbiegungen der Fäden bei der Rotation den Anschein der Schlängelung hervorrufen"; ferner erblickt Cohn in den Vibrionen „den Uebergang zu den Schraubenbakterien oder Spirillen." Fasst man diese Momente zusammen ins Auge, so müsste man auf jeden Fall richtiger die Einzelzelle des Vibrio als ein schraubiges Stäbchen auffassen und die Fäden der Vibrionen als flach ausgezogene Schrauben und nicht als einfach wellig gebogene Fäden. Der nicht schraffirte Faden von Vibrio Rugula, z. B. Fig. 1, F, ist scheinbar nicht anders gebogen als der wellig gebogene Faden des Bacillus subtilis, E; die schraffirten

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, II. Heft, 2, S. 264.

Fadenstücke bei F zeigen aber wesentliche Differenzen, wie sie durch Schraffirung angedeutet sind. Während vor Cohn, zum Begriffe der Bacillen gerade aber starre Fäden gehörten, rechnet Cohn Fäden zu den Bacillen, welche gerade und starr, aber auch solche, welche, wie Fig. 1, E, gerade und biegsam sind, während er im Gegensatze zu den frühren Autoren den Vibrionen keine wellenförmig biegsamen, sondern wellenförmig starre Fäden zuspricht.

Cohn vermochte selbst keinen genügenden Unterschied zu machen zwischen dem wellenförmig gebogenen starren Faden eines Vibrio und einer ächten Schraube und ist unsicher, ob man den Vibrio serpens, Fig. 1, G, nicht „sogar vielleicht besser" zu den ächten Schraubenbakterien rechnen müsse, was durch die umeinander gewundenen Fäden besonders gut illustrirt wird.

Nur in dem einen Punkte ist Cohn auch für die Gattung Vibrio sehr entschieden, dass zu diesem Gattungsbegriffe neben der Wuchsform des bogig oder richtiger schraubig gekrümmten Stäbchens auch die Wuchsform der wellenförmig gebogenen oder richtiger schraubigen Fäden, also zwei Formmerkmale erforderlich sind.

Darüber aber lässt er wieder im Ungewissen, ob bei seinen ächten Spirobakteria zwei Wuchsformen nöthig sind oder ob bei diesen die eine Form der Schraube zur Gattungsbestimmung genügt. Bisweilen spricht Cohn auch bei den Schraubenbakterien von Fäden, scheint also die Schraube mit den Fäden von Vibrionen und Bacillen in Parallele zu stellen und gibt zum Beispiele als Unterschied gegen die Vibrionen „die dichter und enger gewundene, regelmässige formbeständige Schraube des Fadens" an. Auf der anderen Seite sind aber seine Angaben über eine Zusammensetzung der Schraube resp. des schraubigen Fadens aus Einzelindividuen oder Gliedern ungenügend und ohne Uebereinstimmung. Für Spirillum tenue, Fig. 1, K, giebt er an: „der Faden zeigt mindestens $1^1/_2$ Windung und ist dann einem Häkchen oder *s* ähnlich", ohne dass man aber sicher ist, ob er diese *s*-Form als kleinstes Einzelglied auffasst und den Einzelzellen der Bacillen oder Vibrionen gleichwerthig hält oder ob er sie als wirklichen Faden betrachtet. Umgekehrt giebt er für Spirillum undula, Fig. 1, J, an, dass sich gewöhnlich „Glieder von nur einer

halben oder einer ganzen, selten von $1^1/_2$ bis 2, ja 3 Spiralwindungen finden; hier scheint kein Zweifel zu sein, dass er die Glieder mit den Gliedern von Vibrionen und Bacillen gleichwerthig hält, dagegen ist es wieder ganz unklar, ob er die Glieder mit 3 Spiralwindungen auch als Glieder, d. h. als einzellig betrachtet oder ob er sie als Fäden auffasst, d. h. als zusammengesetzt aus den kürzeren Gliedern. Auch für Spirillum volutans, Fig. 1, H, giebt er nach dieser Richtung gar nichts Bestimmtes und nennt nur die Zahl der Windungen und erklärt sehr bestimmt, dass er die von Ehrenberg angenommene Gliederung trotz aller Bemühungen nicht habe finden können. Im Allgemeinen haben wohl Anhänger und Gegner von Cohn aus seinen Angaben herausgelesen, dass er mehr geneigt ist. nicht nur die kurzen Schraubenstücke, sondern auch die längsten Schrauben wegen ihres einheitlichen Eindruckes als Glieder, d. h. als einzellig und nicht als Fäden, d. h. als zusammengesetzt, aufzufassen. Nur darauf muss man achten, dass Cohn selbst die Formabweichungen, welche durch die Entwicklungs- und Theilungsvorgänge bedingt sind, berücksichtigt hat, soweit er diesen normalen Entwicklungskreis von den kleineren zu den grösseren Formen und den Zerfall der grösseren in die kleineren beobachtet hatte und kannte. Die Arten glaubte Cohn auf Grund des Gesammthabitus der Schrauben, Fig. 1, G, H, J, K, natürlich nur als Formarten, abgrenzen zu können; die Formgenera schied er dadurch, dass er unter Spirochaete Formen mit flexiler und langer, enggewundener Schraube, unter Spirillum Formen mit starrer, kürzerer und weitläufiger Schraube verstand.

Eins geht wohl aus Cohn's Darstellung sicher hervor, dass Formmerkmale recht ungenügend sein können, wenn man an der Grenze des Sichtbaren steht. Auch Cohn konnte trotz seiner scheinbar so leichten und sicheren Unterschiede zwischen Vibrio, Spirillum und Spirochaete diese Gattungen nicht einwandsfrei trennen und ist über die Stellung einzelner Formarten zu diesen Gattungen durchaus unsicher.

Er verfiel ähnlichen Unsicherheiten, wie er sie selbst bei Ehrenberg und Dujardin vermerkte, er verschob die Schwierigkeiten, aber er hob sie nicht ganz auf. Aber trotz derartiger Schwächen ist der Fortschritt durch Cohn's grundlegende Arbeit ein ganz

enormer. Er zuerst machte scharfe Unterschiede zwischen naturhistorischen Arten und Formarten, er verlangte zuerst zur Art- und Gattungsbestimmung die Berücksichtigung aller zugänglichen Formmerkmale und wies die Auffassung zurück, dass man mit einer Form allein Formarten, geschweige denn naturhistorische Arten unterscheiden könne. Weiter zeigte er die Wege an, wie man sich provisorisch helfen kann um das Material zu sichten, um etwas festeren Boden für die fernere Forschung zu gewinnen. Er machte es deutlich, dass physiologische Merkmale und experimentelle Forschung den Mangel morphologischer Kriterien für die morphologische Seite der Forschung nicht zu ersetzen vermögen und die Forschung nach dieser Richtung das Wichtigste noch zu thun habe.

Im Laufe der nächsten Jahre, nachdem er inzwischen die Fructification der Bacillen morphologisch vollständig erkannt hatte, kam er auf Grund vergleichender Untersuchungen über die Entwicklung der Formen und über die Wirkungen von Bakterium termo und Bacillus subtilis [1]) zu der etwas modificirten und präcisirten Auffassung, dass seine Gattungen (Mikrokokkus, Bakterium, Bacillus, Vibrio, Spirillum, Spirochäte) natürliche und nicht blosse Formgattungen sind, während die Arten dieser Gattungen nur provisorische und wesentlich Formarten und nur zum Theil wirklich natürliche Arten sind. Die Gattungen Bakterium und Bacillus können „höchstens in ihren ersten Entwicklungszuständen verwechselt werden", sind aber „durch ihre gesammte Entwickelungsgeschichte, durch ihr Verhalten gegen höhere Temperaturen und andere Lebensbedingungen, sowie durch ihre Fermentwirkung" durchaus verschieden. „Unsere Untersuchungen, meint Cohn, geben neue Stütze dem Satze, den ich als den Angelpunkt für die wissenschaftliche Erkenntniss der Bakterien und ihre chemischen und pathogenen Fermentwirkungen überhaupt betrachte, dass es ganz verschiedene Gattungen dieser Organismen giebt, welche immer nur aus Keimen gleicher Art hervorgehen und durch verschiedene Entwickelung, verschiedene biologische Bedingungen und Fermentthätigkeiten sich scharf und constant unterscheiden."

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, II, 2. Heft 1876. S. 274.

III.

Negation des Speciesbegriffes. Gehören alle Bakterien zu einer Art oder Gattung? Sind die Formen nur Anpassungserscheinungen?

Im Gegensatze zu diesen Anschauungen entwickelte Ray-Lankester[1]) 1873 von Neuem die Ansicht, dass alle Bakterienformen genetisch zu einander gehören und alle Bakterien trotz des verschiedenen Habituseindruckes von Kugeln, Stäbchen, Schrauben, Fäden etc. in eine einzige naturhistorische Art oder Gattung zu vereinigen sind. Bei der Untersuchung einer Bakterienart, welche er Bakterium rubescens nannte und die später von Cohn mit seiner Clathrocystis roseo-persicina für identisch gehalten wurde, erklärte Lankester die genetische Zusammengehörigkeit von kugligen, bisquitförmigen Zellen, Stäbchen, Schrauben, monasartigen Formen deshalb, weil alle diese Formen einen eigenthümlichen, Bakterio-Purpurin genannten Farbstoff enthielten.

An sich stehen diese Beobachtungen nicht im Gegensatze zu den Ausführungen von Cohn, sondern würden dessen Ansicht nur erweitert haben durch den Nachweis, dass einzelne Bakterien einen weiteren Formenkreis durchlaufen können, als Cohn ihn selbst gefunden hatte. Nach dieser Richtung wurden die Angaben von Lankester aber von den Anhängern von Cohn und von diesem selbst nicht genügend geprüft, sondern meist und voreilig als unrichtig bezeichnet. Auf der anderen Seite machte aber Lankester den noch viel grösseren Fehler aus dieser einzigen Beobachtung, deren Lücken noch dazu erst später ausgefüllt wurden, für alle Bakterien die Uebergangsfähigkeit aller Formen zu folgern, trotzdem für andere Arten und Formen charakteristische Merkmale, wie sie ein gut gekennzeichneter Farbstoff liefert, nicht vorhanden waren.

Aehnlich ist die Ansicht, welche Billroth[2]) bald nach

---

[1]) On a peach-coloured Bacterium. Quart. Journal of microscopical science, 1873, Ser. II, Vol. 13; ibid. 1876, S. 27 und S. 278.

[2]) Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica, 1874.

Lankester entwickelte, indem er in dem Auftreten verschiedener Formen wesentlich eine Abhängigkeit vom Substrate sah. Auch Warming[1]) schloss sich 1875 der Ansicht von Lankester und Billroth an und meinte, dass die verschiedenen Gattungen der Bakterien nicht haltbar sein werden und dass vielleicht nur eine einzige Gattung Bakterium mit nach dem Substrate wechselnden Entwicklungsstadien anzunehmen sei. Ebenso spricht sich Klebs[2]) über die Uebergangsfähigkeit der einen Form in eine andere aus, da alle Formen nur Entwicklungsstadien ein und desselben Organismus darstellen sollen, mit der Reserve allerdings, „dass es gewisse Formen pathogener Schizomyceten giebt, welche vorzugsweise als Stäbchen, andere, die vorzugsweise als Kugelbakterien auftreten."

Diese gegen Cohn gerichteten Ansichten sind wesentlich darauf basirt, dass in Bakteriengemischen sich alle möglichen Formen von Einzelzellen, oft scheinbar als directe Uebergangsformen vorfinden, und finden ihre methodische Begründung wesentlich in dem negativen Merkmale, dass es den betreffenden Autoren nicht gelingen wollte, aus derartigen Gemischen sicher bestimmte Arten oder Formarten zu isoliren. Nur Lankester versuchte die Zusammengehörigkeit der Formen durch ein scharfes, physiologisch-chemisches Merkmal direct zu erweisen. Im Gegensatze zu der Forderung von Cohn alle Formmerkmale zu berücksichtigen, wurde in diesen Arbeiten die Form der Einzelzellen einseitig herausgegriffen, und hierin liegt schon der Beginn der späteren Confusion, welche daraus entstand, dass Cohn's Gattungsnamen, Mikrokokkus, Bakterium, Bacillus etc. ohne dass dieser geänderte Sinn besonders vermerkt wurde, als einfache Bezeichnungen für bestimmte Formen von Einzelzellen gebraucht wurden.

Man fing an mit Mikrokokkus nicht mehr eine Gattung mit mehreren Formmerkmalen zu bezeichnen, sondern verstand darunter eine kuglige oder ellipsoide Zelle. Die Gattungsbezeichnung Bakterium

---

[1]) Om nogle ved Danmarks kyster levende Bacterier. Videnskabelige Meddelelser fra den naturhistoriske Forening i Kjobenhavn, 1875, S. 307, citirt nach einem Referate von Schröter im Botanischen Jahresbericht.

[2]) Archiv für experimentelle Pathologie, 1875, Bd. 4.

diente Vielen von jetzt ab zur Bezeichngng eines Kurzstäbchens, Bacillus bezeichnete einfach ein Langstäbchen. Hiermit wurde aber eine einseitige Auffassung angebahnt, welche Cohn selbst wiederholt zurückgewiesen hatte und vieles, was später aus mangelnder Kenntniss der Argumente von Cohn gegen ihn angeführt wurde, bewies nur die Richtigkeit seiner vorsichtigen Fassung, welche die Unmöglichkeit oder Schwierigkeit dargelegt hatte, die Formen der Einzelzellen der verschiedenen Gattungen scharf gegeneinander abzugrenzen.

Während Cohn deshalb seine Gattungsbezeichnungen nach dem Usus der Morphologie von besonders charakteristischen, nie fehlenden Merkmalen hernahm, bildeten sich jetzt auch Bezeichnungen aus, bei denen die Gattungsbezeichnung womöglich ganz überflüssigerweise alle Formen umfassen sollte; so sprach Billroth von einer Kokkobakteria und Biedert [1]) neuerdings von einem Kokkobacillus. Wenn man in dieser Weise fortfahren wollte, müsste man schliesslich eine Beggiatoa umtaufen in eine „Kokko-Bakterio-Bacillo-Vibrio-Spirillo-Spirochaete-Spirulina". Ich hoffe, dass diese ungeheuerliche Wortbildung, welche höchstens im Bereiche der Wortbildung der modernen organischen Chemie als harmlos kurze Bezeichnung gelten könnte, welche aber ebenso correct gebildet ist wie die Worte Kokkobakteria oder Kokkobacillus, den in der Entstehung begriffenen Gegensatz gegen die klare morphologische Auffassung von Cohn recht deutlich macht.

Durch die Experimente von Pasteur, durch die Beobachtungen von Cohn und Schröter, durch einzelne Angaben von Lankester und Klebs war die Möglichkeit gezeigt, auch bei den Bakterien einen einwandsfreien Ausgangspunkt zu finden, um bestimmte Arten oder Formen von anderen zu trennen und von solchen reinen, isolirten Formen ausgehend zu ermitteln, welche Formen in den Entwicklungskreis einer Art gehören. Nägeli [2]) erklärte demgegenüber: „Spaltpilze gestatten mit Sicherheit keine Reinkultur, theils wegen ihrer ausserordentlichen Kleinheit, theils wegen ihrer allgemeinen Verbreitung im Wasser und in der Luft". Mit dieser Erklärung

---

1) Virchow's Archiv, Bd. 100, 1885, S. 439.

2) Nägeli und Schwendener. Das Mikroskop, 2. Aufl., 1877, S. 644

verzichtete Nägeli von vornherein auf einen zuverlässigen Ausgangspunkt und auf eine rein sachliche Kritik.

Bei so eigenthümlicher Sachlage musste das Erscheinen des bekannten Werkes von Nägeli[1]) von Einfluss auf das Urtheil über die Morphologie und Biologie der Bakterien werden. Der Mangel jeder historischen Angabe, die Sicherheit, mit der die „vorläufigen Sätze" und der Inhalt des Werkes selbst vorgetragen wurden, erweckten vielfach den Anschein, als handele es sich um positive Thatsachen, durch welche die schwierigsten Probleme des Gebietes mit einem Schlage klar gestellt wurden.

Nägeli hat nicht, wie man ihm oft vorwarf, geleugnet, dass es unter den Bakterien möglicherweise Arten geben könne, er hat nicht behauptet, dass alle Bakterien in eine einzige Art zusammengefasst werden müssten; er hat, wenn auch mit grosser Reserve zugegeben, dass es specifische Differenzen unter den Bakterien giebt. Aber er leugnete in sehr entschiedener Weise die Möglichkeit, auf dem von Cohn betretenen Wege der Klärung zur Abgrenzung von Arten zu kommen und beanstandete damit gerade den Theil der Anschauungen von Cohn, der allein geeignet war, der Pathologie, Physiologie und Hygiene zu einem sicheren Ausgangspunkte zu verhelfen. Der Arzt will in erster Linie wissen, ob bei einer Krankheit beobachtete Mikroorganismen diagnostisch und differentialdiagnostisch verwerthbar sind. In diesem Sinne ist z. B. die Entdeckung der Milzbrandbacillen für die Diagnose dieser Krankheit auch von Solchen verwerthet worden, welche nicht an die ätiologischen Beziehungen „glauben", und die kleinen Formabweichungen dieser Bacillen von denen des malignen Oedems geben ein werthvolles Mittel zur Differentialdiagnose beider Krankheiten, welche früher oft mit einander verwechselt wurden. In diesem Sinne ist der Nachweis der Tuberkelbacillen fast schon Gemeingut der praktischen Aerzte geworden und wird auch in den Laboratorien von Pathologen geübt, welche die ätiologischen Beziehungen zur Tuberculose noch als offne Frage

[1]) Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infectionskrankheiten und der Gesundheitspflege, 1877.

behandeln. In diesem Sinne ist der Nachweis der Spirochaeten bei Recurrensfieber längst verwerthet.

Gerade diese Frage war aber erst durch die strengeren Formabgrenzungen, wie sie Cohn begründet hatte, einer Lösung entgegengeführt worden. Diese Frage ist praktisch für den Mikroskopiker in erster Linie eine Frage der Formeigenthümlichkeit und der Constanz derartiger Formeigenthümlichkeiten, weil nachgewiesener Maassen unter bestimmten, typischen Verhältnissen, wie sie bestimmte, typische, pathologische Zustände bieten, bestimmte und deshalb typische Formen immer wiederkehren, ganz gleichgültig, ob in der Entwicklung zu dieser bestimmten Form ein enger oder weiter Formenkreis durchlaufen wird.

Die positive Beantwortung der Frage in diesem Sinne setzt aber voraus, dass die verschiedenen Formen, mögen sie auch noch so ähnlich sein, nicht beliebig in einander übergehen können, dass sie nicht schlechthin veränderlich sind, sondern dass die Verschiedenheit der überhaupt zur Beobachtung kommenden Formen zum Theil wenigstens in primären Artunterschieden begründet ist. In diesem Sinne ist von Cohn, Koch und ihren Schülern wiederholt auf die Differenzen in der Form der Einzelzellen hingewiesen worden, als auf ein zur Artbestimmung werthvolles, allein allerdings nur sehr selten genügendes Formmerkmal.

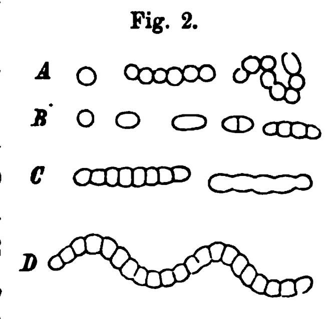
Die zweite den Arzt interessirende Frage ist die, ob bestimmte Mikroorganismen, welche unter bestimmten Bedingungen in bestimmter Form auftreten, auch die Ursache dieser Krankheit sind. In dieser allgemeinen ätiologischen Hinsicht ist die moderne Pathologie, dank besonders den Arbeiten von Virchow, sehr liberal. Sie verlangt nur, dass specifische Wirkungen, wie sie uns in den Infectionskrankheiten entgegen treten, durch entsprechend specifische, typische Ursachen bedingt sein müssen, dass das Causalitätsprincip auch auf diesem Gebiete zur Anwendung komme. Diese Forderung ist aber schon zu einer Zeit gestellt worden, als die Lehre von den organisirten Krankheitserregern sich noch nicht Bahn gebrochen hatte, zu einer Zeit also, als man sich im Allgemeinen die Krankheitsursachen noch gar nicht organisirt dachte, von einem Speciesbegriffe mithin überhaupt noch keine Rede sein konnte. Die Ansicht, dass die speci-

fischen organischen Erreger der specifischen Krankheiten die Constanz der naturhistorischen Species haben müsse, verlangt die Pathologie im Princip nicht, sondern nur dass Ursache und Wirkung sich überhaupt decken. Die von Nägeli als vorhanden supponirte und zurückgewiesene Ansicht, dass „die Krankheiten keine Species im naturhistorischen Sinne“ sind, ist von der naturwissenschaftlichen Schule, in der Pathologie, welche 1877 allein in Frage kommen konnte, nie aufgestellt, wohl aber oft mit Entschiedenheit zurückgewiesen worden, wie ich bereits früher einmal [1]) gegen Nägeli geltend machen musste.

In ganz derselben Lage befindet sich die Physiologie. Pasteur hatte schon lange [2]) für die Fermentationen die Existenz specifischer Hefen postulirt, ohne aber etwa nur an naturhistorische Arten zu denken, oder gar die Producte der Alkohol-, Buttersäure- oder Milchsäuregährung als Species zu erklären.

Gestützt auf Beobachtungen in Bakteriengemischen und unter principiellem Verzicht auf den Ausgang von Reinkulturen fand Nägeli keine Nöthigung „auch nur zur Trennung in zwei specifisch verschiedene Formen.“ Seine Auffassung geht vielmehr dahin: „Alle Spaltpilze sind kurze Zellen (vor der Theilung etwa $1^1/_2$, nach derselben $^3/_4$ so lang als breit), alle zeigen sich bald schwärmend, bald ruhend; die Verschiedenheiten bestehen bloss in der ungleichen Grösse und darin, dass die Zellen sich nach der Theilung von einander lostrennen oder dass sie zu Stäbchen und Fäden verbunden bleiben, welche bald gerade, bald mehr oder weniger schraubenförmig gewunden sind.“ „Alle dickeren Stäbchen und Fäden (oft selbst die dünneren) erscheinen bei Behandlung mit verschiedenen chemischen Reagentien (namentlich mit Jodtinctur, auch beim Austrocknen) bald torulos (wodurch die Gliederung nur angedeutet wird), bald deutlich kurzgliederig.“ Die Fig. 2 illustrirt diese Auffassung von Nägeli, welche an Einfachheit nichts zu wünschen

Fig. 2.



[1]) Deutsche militärärztliche Zeitschrift, 1882, No. 3.

[2]) Comptes rendus, 1858, Bd. 47, S. 224.

übrig lässt und mit den Angaben und Zeichnungen, welche Ehrenberg bereits 1838 und Perty 1852 gegeben haben, fast ganz übereinstimmt.

Während Cohn bei Beachtung aller morphologischen und physiologischen Merkmale angenommen hatte, dass die verschiedenen Arten verschiedene Funktionen ausüben, und dass man deshalb in den Fällen, in denen die morphologischen Merkmale nicht zur Unterscheidung naturhistorischer Arten oder doch von Formarten ausreichen, wenigstens physiologische Arten annehmen könne, giebt Nägeli an, er habe „von jeher bei der nämlichen Zersetzung oft einen ziemlich weiten Formenkreis der anwesenden Spaltpilze oder mit anderen Worten ein Gemenge von mehreren Formen, die man gewöhnlich specifisch oder selbst generisch trennt, beobachtet, anderseits bei ganz verschiedenen Zersetzungen dem Anschein nach durchaus die gleichen Spaltpilze gefunden. Diese Thatsache ist der Behauptung, dass jeder Zersetzung eine specifische Pilzform zukomme, durchaus ungünstig.“ Nägeli ist deshalb ferner der Ansicht, dass die „morphologischen Eigenschaften der Spaltpilze und ihr Vermögen, verschiedene Zersetzungen zu bewirken, eine generische und specifische Unterscheidung nicht rechtfertigen“ und „dass die Spaltpilze sich nicht nach ihren Hefewirkungen und ihrer Formbildung specifisch gliedern.“ Auf der anderen Seite nimmt er aber an, dass, wenn auch die Möglichkeit vorliege „alle Formen in eine einzige Species zu vereinigen“ die grössere Wahrscheinlichkeit vorhanden sei, „dass es einige wenige Arten giebt, die aber mit den jetzigen Gattungen und Arten wenig gemein haben und von denen jede einen bestimmten aber ziemlich weiten Formenkreis durchläuft.“

Die Beobachtung, dass unter bestimmten Verhältnissen bestimmte Formen auffallend regelmässig wiederkehren deutete er, wie vor ihm bereits Lankester, Billroth und Warming, als eine Anpassungserscheinung, indem er jeder Species das Vermögen zuschrieb „sich ungleichen äusseren Verhältnissen anzupassen, und demgemäss in verschiedenen morphologisch und physiologisch eigenthümlichen Formen aufzutreten.“ „Ich halte es für denkbar, führt er in dieser Hinsicht weiter an, dass die Spaltpilze durch den Umstand, dass sie während vieler Generationen die gleichen Nährstoffe

aufnehmen und die gleiche Gährwirkung ausüben oder auch keine Gährung zu vollbringen Gelegenheit finden, einen mehr oder weniger ausgesprochenen Character der Anpassung erhalten, — dass sie morphologisch irgend eine bestimmte Form (Mikrokokkus, Bakterium etc.) bevorzugen, und dass sie auch physiologisch für die eine oder die andere Zersetzung tauglicher werden. Es werden sich also Formen von ungleich starkem Gepräge und ungleicher Constanz ausbilden, die den verschiedenen äusseren Bedingungen entsprechen." Auf diese Weise kommt Nägeli zu der Ansicht: „Jede Species der Spaltpilze tritt in mehreren morphologisch und physiologisch verschiedenen Formen auf, welche durch die äusseren Verhältnisse rasch oder langsam ineinander umgewandelt werden, wobei die frühere Hefenwirksamkeit verloren geht und eine andere erworben wird."

Auch für die krankheitserregenden Bakterien findet Nägeli, dass sie „nicht specifisch verschieden, sondern Formen einer oder einiger weniger Species sind." Viele Beobachtungen über die Ursachen und die Verbreitung von Infectionskrankheiten, über das Gehen und Verschwinden einzelner Krankheiten, das Auftreten ganz neuer Seuchen machen ihm „die Annahme, es seien die Infectionspilze der verschiedenen Krankheiten Species im naturgeschichtlichen Sinne, nicht wohl möglich."

Diese Ansichten über eine fast schrankenlose Anpassungsfähigkeit der Formen an geänderte Aussenbedingungen und über den hiermit Hand in Hand gehenden Wechsel der Funktion, finden schliesslich noch eine Zusammenfassung in folgenden Worten: „Wenn meine Ansicht über die Natur der Spaltpilze richtig ist, so nimmt die gleiche Species im Laufe der Generationen abwechselnd verschiedene morphologisch und physiologisch ungleiche Formen an, welche im Laufe von Jahren und Jahrzehnten bald die Säuerung der Milch, bald die Buttersäurebildung im Sauerkraut, bald das Langwerden des Weines, bald die Fäulnisse der Eiweisstoffe, bald die Zersetzung des Harnstoffs, bald die Rothfärbung stärkemehlhaltiger Nahrungsmittel bewirken, und bald Diphtherie, bald Typhus, bald recurrirendes Fieber, bald Cholera, bald Wechselfieber erzeugen."

IV.

Controverse über den Speciesbegriff und die Bedeutung der Form für die Artbestimmung.

Die Form, in welcher Nägeli seine Ansichten vortrug, ist wohl von Allen als eine entschiedene Stellungnahme gegen die Ansichten von Cohn aufgefasst worden und doch ist dies inhaltlich durchaus nicht ganz richtig. Das meiste, was Nägeli gegen Cohn auszusprechen glaubte, betrifft überhaupt gar nicht dessen Ansichten, sondern wendet sich vielmehr gegen die längst widerlegten älteren Anschauungen. Was Nägeli in erster Linie in Abrede stellte, war die Berechtigung die Cohn'schen Arten als ächte naturhistorische Species und seine Gattungen als natürliche zu bezeichnen. Diesen Punkt hatte aber Cohn bereits vor Nägeli unendlich viel sorgfältiger erörtert und so klar gestellt, dass es mir ganz unbegreiflich ist, wie man hierin eine Widerlegung von Cohn erblicken konnte, da Nägeli im Princip nur dasselbe, aber mit anderer und viel weniger sachlicher und gründlicher Motivirung vorbrachte. Dass sich die Anhänger der Anschauungen von Cohn der Unterschiede zwischen Species im naturhistorischen Sinne und specifischen Differenzen, wie sie Cohn bereits 1872 ausgesprochen hatte, bewusst geblieben sind, geht beispielsweise daraus hervor, dass Koch[1]) 1881 erklärte, „dass alle diejenigen Bakterien, welche auf demselben Nährboden und unter übrigens gleichen Verhältnissen durch mehrere Umzüchtungen oder sogen. Generationen ihre Eigenschaften, durch welche sie sich von einander scheiden, unverändert beibehalten, auch als verschieden anzusehen sind, mag man sie nun als Arten, Varietäten, Formen, oder wie man sonst will, bezeichnen."

Während Cohn seine Formgattungen und Formarten unter Berücksichtigung aller ihm bekannten Formmerkmale abzugrenzen versuchte und nur den Schraubenformen eine etwas grössere Bedeutung beilegte, im Allgemeinen sich aber dagegen erklärte, dass man aus

---

[1]) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, I, 1881, S. 31.

der Form der Einzelzellen weitgehende Schlüsse ziehen dürfe, ist bei Nägeli nur von den letzteren die Rede. Indem Nägeli aus dem Nebeneinandervorkommen aller möglichen Formen auch die Uebergangsfähigkeit aller Formen ineinander theoretisch construirte, begünstigt durch die Annahme der geschilderten, aber niemals nachgewiesenen Zusammensetzung aller Bakterienformen aus isodiametrischen Gliedern, ignorirte er die Motive von Cohn vollständig, der nichts weiter behauptet hatte, als dass, unbekümmert um die Formabweichungen bei der normalen Entwickelung und unbekümmert ob ein kleiner Formenkreis durchlaufen wird und bei der Ontogenese mehrere Formen auftreten können, eine bestimmte Form der Einzelzellen typisch wiederkehrt. Dass eine derartige Formconstanz vorkommt giebt auch Nägeli zwischen den Zeilen zu, wenn er von „morphologisch und physiologisch eigenthümlichen Formen“ als einem Anpassungsvorgange spricht.

Betrachtet man die Controverse von diesem sachlichen Standpunkte, so sind die principiellen Differenzen zwischen Cohn und Nägeli nicht so schroff, wie sie nach der Darstellung von Nägeli Jedem erscheinen müssen. Während Cohn auf Grund seiner ausgedehnten Beobachtungen den zu einer Gattung und Art gehörigen Formenkreis relativ eng zog, unter ausdrücklicher Zurückweisung eines wirklichen Monomorphismus, hat Nägeli unter Verzicht auf einen einwandsfreien Ausgangspunkt den Formenkreis der Species willkürlicher und im Princip weiter gezogen. Cohn kennt vorwiegend relativ einförmige, aber nicht wirklich monomorphe, Nägeli dagegen nur pleomorphe Arten. Cohn hielt die Summe der morphologischen und biologischen Eigenschaften für verhältnissmässig constant, zum mindesten zur provisorischen Trennung in Formarten und physiologischen Arten genügend, während Nägeli alle Merkmale ausdrücklich als schlechthin veränderlich und deshalb als ungenügend zur Bestimmung naturhistorischer Species auffasste.

Die nächste Folge der Darstellung von Nägeli war nun die, dass die schon eingeleitete Confussion definitiv Platz griff, in einer Weise, welche jetzt noch herrscht und in unserer Tageslitteratur jeden Augenblick zur Erscheinung kommt. Die Anhänger von Nägeli waren im Allgemeinen consequenter als die von Cohn,

indem sie die Gattungsnamen von Cohn, wie Mikrokokkus, Bakterium, Bacillus etc., allerdings ohne diese Aenderung anzugeben, nur noch als Bezeichnungen von Formen in dem früher schon erwähnten Sinne gebrauchten, während manche Anhänger von Cohn, durch die Bestimmtheit dieser Angaben verleitet zum Theil ebenso verfuhren, während andere an der Motivirung von Cohn stricte festgehalten haben und die Namen nicht für einzelne Formen, sondern für Gattungen anwendeten.

Auf diese Weise war es nicht zu vermeiden, dass mancher Forscher, der nur Ergänzungen und Berichtigungen zu Cohn's Argumenten brachte unter Bestätigung des Cardinalpunktes seiner Ausführungen, Cohn's Ansichten zu widerlegen meinte, während andere Forscher Cohn ganz besonders gut zu vertheidigen glaubten, wenn sie eine extreme Formconstanz aufstellten.

V.

Stellung der Aufgabe. Giebt es monomorphe, relativ einförmige und entschieden pleomorphe Arten unter den Bakterien? Erweiterung des Begriffes Bakterien.

Die Aufgaben, welche durch die weitere Forschung zu lösen waren, sind durch die Controverse zwischen Cohn und Nägeli schon genügend angedeutet. Ich will die wichtigsten der zu lösenden Fragen der Mittheilung der Thatsachen vorausschicken, weil eine genügende Präcisirung bis jetzt noch nicht gegeben ist und das Verständniss für den Werth der einzelnen Ermittelungen durch eine scharfe Fragestellung erleichtert wird.

A. Die Art unter nicht geänderten Aussenbedingungen.

1. Welche Formen gehören in den normalen Entwickelungskreis einer Art unter den Verhältnissen des spontanen Vorkommens? Ist die Art nach der Zahl der auftretenden Formen als monomorph, als relativ einförmig oder als entschieden pleomorph zu bezeichnen?

2. Welche Form stellt das vegetative Stadium dar, welche Form ist demnach die für eine bestimmte Zersetzung oder Krankheit typische oder giebt es keine derartige Form? Welche Veränderung erfährt die vegetative Form durch die normalen Theilungsvorgänge?
3. Wenn successive verschiedene Formen auftreten, hängen dieselben mit der Veränderung des Nährbodens derart zusammen, dass nach dem vegetativen Stadium, sich besondere Ruheformen, Erschöpfungsformen oder Dauerformen bilden? oder vermögen vielleicht gerade umgekehrt die verschiedenen Formen des Formcyklus einer Art ganz verschiedene Zersetzungen oder Krankheiten zu bewirken? Ist demnach das Auftreten verschiedener Formen die Ursache verschiedener physiologischer Wirkungen oder nicht nur einfach ein Zeichen, dass ein bestimmtes Stadium gerade vorhanden ist?

B. Die Art unter geänderten Aussenbedingungen.

1. Treten in allen Medien dieselben Formenkreise auf oder können in verschiedenen Medien ganz verschiedene Entwicklungscyklen vorkommen?
2. Können in bestimmten Medien einzelne der normaler Weise sich folgenden Formen fehlen, und wenn dies der Fall ist, hängt dies von einem specifischen Einflusse dieses Mediums ab oder nicht vielleicht nur einfach davon, dass das Medium einem bestimmten Entwickelungsstadium der Art besonders entspricht, so dass die andern Formen sich überhaupt nicht bilden können?
3. Können die einzelnen Formen nach dem Substrate variiren, sich anpassen, in ihren Dimensionen ändern?
4. Wenn Veränderungen der Form auftreten ist dies immer eine Anpassungserscheinung oder kann es auch ein Zeichen des Erliegens im Kampfe ums Dasein sein?
5. Ist die individuelle Variation derart, dass dadurch die Artbestimmung unmöglich wird; sind diese Formmerkmale schlechthin veränderliche und gehören sie bereits in das Gebiet der Umzüchtung, des Transformismus?

6. Oder ist die Breite der Variabilität nur derart, dass dadurch die Artbestimmung nicht alterirt, event. sogar die Differentialdiagnose erleichtert wird?

C. Sind unter Berücksichtigung dieser Ermittelungen zwingende Gründe zu der Annahme vorhanden, dass alle Bakterien trotz des differenten Habituseindruckes als aus isodiametrischen Gliedern zusammengesetzt zu betrachten sind oder kommen verschiedene Formen vor?

Der erste, welcher von Neuem einen weiteren Formenkreis bei den Bakterien postulirte, war Cienkowski[1]), welcher den genetischen Zusammenhang von Mikrokokkus, Bacillus und Leptothrix als direct beobachtet angab. Würde man diese Angabe im Sinne der Terminologie von Cohn interpretiren, so würde dies heissen, dass er den Uebergang verschiedener Formgattungen in einander gefunden haben wollte, während Cienkowski nichts weiter sagen wollte, als dass nach seinen Beobachtungen in der Entwickelung von bestimmten Bakterien ausser den von Cohn schon längst erkannten Fäden, Langstäbchen und Kurzstäbchen auch kugelige Zellen auftreten können. In dieser Form vorgetragen, würde diese Beobachtung schon damals vielleicht die Möglichkeit gezeigt haben, dass einzelne Bakterien einen weiteren Formenkreis durchlaufen können als Cohn angenommen hatte. So aber konnte es nicht an heftigem Widerspruche fehlen und van Tighem[2]) erklärte geradezu die Beobachtungen und Ansichten von Cienkowski als „pas conforme à la vérité."

M. Wolff[3]), der nicht der Ansicht ist, „dass alle möglichen Spaltpilzformen nur Entwickelungsstufen eines und desselben Pilzwesens sind", fand zwischen Kugelbakterien und den kurzen Stäbchen einen genetischen Zusammenhang und beobachtete Uebergangsformne zwischen „den exact runden oder ovalen und exact stäbchenförmigen Gebilden". Er hatte nämlich mit Eiter, in welchem er nur runde

---

1) Zur Morphologie der Bakterien 1877.

2) Sur la gomme de sucrerie. Annales des sciences naturelles. Botanique. T. VII 1878, S. 180.

3) Zur Bakterienlehre bei accidentellen Wundkrankheiten. Virchow's Archiv Bd. 81, 1880, S. 193 und S. 385.

Formen beobachtet hatte, Nährlösungen und Thiere inficirt und fand später in den Lösungen „neben den Mikrokokken auch kurze cylindrische Stäbchen“ und bei den Thieren in dem an der Injectionsstelle entstandenen Oedem fast nur kurze cylindrische Stäbchen.

Wernich[1]) inficirte verschiedene Nährlösungen mit je einem Tropfen ein und derselben Faulflüssigkeit und beobachtete in den Lösungen Formen, welche den in der Ursprungsflüssigkeit gesehenen „sehr ähnlich“ waren. Wegen dieser Aehnlichkeit, aber nicht völligen Gleichheit kam Wernich zur Ansicht einer „labilen Formbeständigkeit“, die er aber ebenso wie Wolff seine Beobachtungen nur auf die Möglichkeit des Ueberganges von Formen angewendet wissen wollte, welche sich schon so wie so sehr nahe stehen.

Die Versuche von Wolff und Wernich waren aber ohne die nöthigen Cautelen und vor Allem ohne Ausgang von Reinkulturen angestellt. Als Gaffky[2]) diese Versuche unter Beobachtung der nöthigen Vorsichtsmassregeln wiederholte, ermittelte er, dass bei Uebertragungen aus Bakteriengemischen, wie sie Eiter und Faulflüssigkeiten darstellen, in verschiedenen Nährlösungen in diesen inficirten Lösungen nicht ähnliche, sondern dieselben Formen auftraten, wie sie in der zur Infection benutzten Flüssigkeit enthalten waren, aber derart, „dass die eine Form, um nicht zu sagen Art, diese, die andere jene Nährlösung bevorzugt.“

Inzwischen hatte Cohn[3]) für Bacillus subtilis, Fig. 1E, das Auftreten von kurzen, mit Bakterium termo leicht zu verwechselnden Stäbchen, von längeren Stäbchen und von Fäden sicher gestellt, welche letztere zum Theil deutlich gegliedert, zum Theil scheinbar ungegliedert waren. Derartige Scheinfäden erklärte Cohn als die Leptothrix-Form und dadurch wurden zum ersten Mal die bis dahin als selbstständige Art betrachteten starren Fäden, Leptothrix, als eine einfache Entwickelungsform erkannt. In diesem Sinne erklärte sich, l. c. S. 272, Cohn dafür, dass die als Leptothrix buccalis

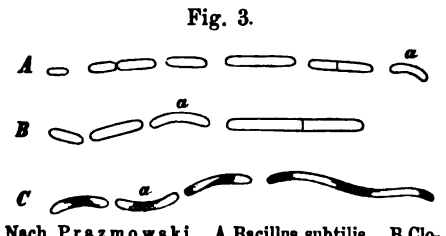
[1]) Die accomodative Züchtung der Infectionstoffe. Kosmos IV, 1880, Heft 8.

[2]) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, 1881, Bd. I, S. 121.

[3]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. II, Heft 2, 1876, S. 262.

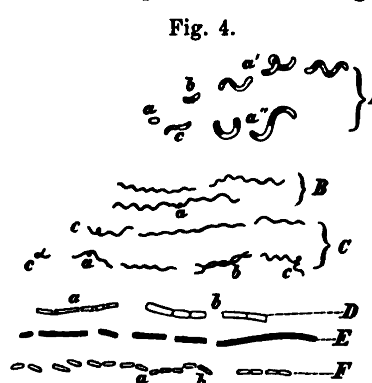
bezeichneten Fäden wahrscheinlich nichts als „unbeweglich gewordene Entwicklungszustände eines Bacillus“ sind, dass in derselben Weise „auch die vielen, in pathologischen Bildungen beobachteten Leptothrixformen in den Entwickelungskreis unserer Gattung Bacillus gehören, wenn auch der genetische Zusammenhang noch dunkel ist“. Denselben Entwickelungskreis von Bacillus subtilis beobachteten später Brefeld[1]) und Prazmowski[2]), Fig. 3A, ohne dass es diesen Forschern gelang, weitere in diesen Kreis gehörige Formen zu finden. Auch für Bacillus ulna, Clostridium butyricum, Fig. 3 B Clostridium polymyxa ermittelte Prazmowski denselben Formenkreis. Eine Erweiterung dieses Formenkreises bei der Sporenbildung kann erst später berücksichtigt werden. Dasselbe stellte Koch[3]) für den Bacillus anthracis, Fig. 4 D, fest, und Prazmowski fand für Vibrio rugula, Fig. 3 C, kürzere und längere schraubige, scheinbar einfach gekrümmte Stäbchen, und längere schraubige, scheinbar wellig gebogene Fäden wie es schon früher Cohn angegeben hatte.

Fig. 3.



Nach Prazmowski. A Bacillus subtilis. B Clostridium butyricum. C Vibrio rugula.

Fig. 4.



Nach Photogrammen von Koch. A Spirillum undula. B Recurrens-Spirochäte. C Zahnspirochäte. D Milzbrandbacillen bei a Maus, b Ratte. E Bacillen des malignen Oedems. F. Bacillus subtilis.

Als Ergänzung zu den früheren Untersuchungen von Cohn zeigt die Fig. 4 nach Photogrammen von Koch[4]), dass in der Entwicklung von Spirillum undula A (die Verschiedenheiten von a' und

[1]) Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, IV, 1881.

[2]) Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten, 1880.

[3]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen. II, Heft 2, 1876, S. 277.

[4]) ibid. Bd. II, Heft 3, 1877.

a'' rühren von verschiedener Präparation her) noch kürzere Einzelglieder, a, b, c, vorkommen, als sie Cohn in Fig. 1, J beobachtet hatte. Es war damit festgestellt, wenn auch nicht ausdrücklich erklärt, dass in der Entwicklung von Spirillum eben so gut wie in der Entwicklung von Vibro zwei Wuchsformen, kurze schraubige, scheinbar nur gekrümmte Stäbchen und als Fäden längere Schrauben vorkommen. Die Unsicherheiten, welche Cohn bei den Abgrenzungen der Gattung Vibrio gegen Spirillum begegneten, liegen also tiefer begründet und es bleibt als einziges, noch dazu ganz unsicheres, durch Uebergangsformen wie Vibrio s. Spirillum serpens, Fig. 1, G, verbundenes Unterscheidungsmerkmal, dass die schraubigen Fäden von Vibrio, Fig. 1, F, Fig. 3, C, flach ausgezogen, die von Spirillum, Fig. 1, H, J, K und Fig. 4, A enger sind. Hiermit war ein Anhaltspunkt dafür gefunden, dass die Schrauben der Schraubenbakterien keine Glieder und nicht einzellig, sondern dass sie Fäden und zusammengesetzt sind. Vergleicht man weiter unbefangen Cohn's Zeichnung von Spirillum tenue, Fig. 1, K, mit Koch's Photogrammen der Spirochaeten des Rückfallfiebers, Fig. 4, B, und den Zahnspirochaeten, Fig. 4, C, so wird man finden, dass allein nach der Form der Schraube eine scharfe Grenze auch zwischen der Gattung Spirillum und Spirochaete nicht zu ziehen ist. Diese Ermittellungen, dass bei den Schraubenbakterien höchst wahrscheinlich ebenso wie bei Cohn's Fadenbakterien zwei Wuchsformen, die von Einzelgliedern und Fäden, zu beachten sind, ergänzen Cohn's Ausführungen über seine Gattungen der Schraubenbakterien sehr wesentlich und zeigen, wenn dieser Punkt auch erst viel später richtig erkannt wurde, dass die Fadenform der Schrauben allein zur Abgrenzung von Formgattungen ein unzureichendes Mittel ist. Aber diese Ermittelungen stellen im Princip für die Schraubenbakterien nur dasselbe fest, was Cohn für die Fadenbakterien eingehend entwickelt hatte, dass kürzere und längere Einzelglieder und Fäden, also ein relativ enger Formenkreis, zur Artbestimmung gehören.

Auch die weiteren Untersuchungen von Koch, Gaffky und Löffler[1]) ergaben keine weiteren Formenkreise, wie z. B. Fig. 4,

[1]) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, I, 1881.

D für Milzbrandbacillen bei verschiedener Präparation, E für die Bacillen des malignen Oedems und F für den Bacillus subtilis zeigen; bei den letzteren sind die kleinsten Glieder bei a und noch mehr bei b erheblich kürzer als Cohn angenommen hatte, ohne aber deutliche Ellipsoide oder Kugeln zu bilden.

Den bis jetzt ermittelten Thatsachen gegenüber, dass es unter den Bakterien Arten mit einem relativ geringen Formenkreis giebt, konnten, wie Kurth,[1]) ein entschiedener Anhänger von der Existenz pleomorpher Arten, angab, „die fast ohne jede Cautelen ausgeführten Versuche Billroth's, die nur in allgemeiner Form gehaltenen, durch keine speciellen Beweise gestützten Behauptungen Naegeli's, nicht Stand halten. Die auf Grund dieser Lehren weit verbreitete und durch zahlreiche in diesem Sinne ausgeführten Arbeiten bekundete Meinung, dass alle die in den starken Nährlösungen, in faulendem Blut, sich zersetzendem Eiter, in Heuaufgüssen etc. in buntem Gemisch durch einander vorkommenden Formen auseinander entstanden seien und jederzeit wieder in eineinander übergehen könnten, war widerlegt."

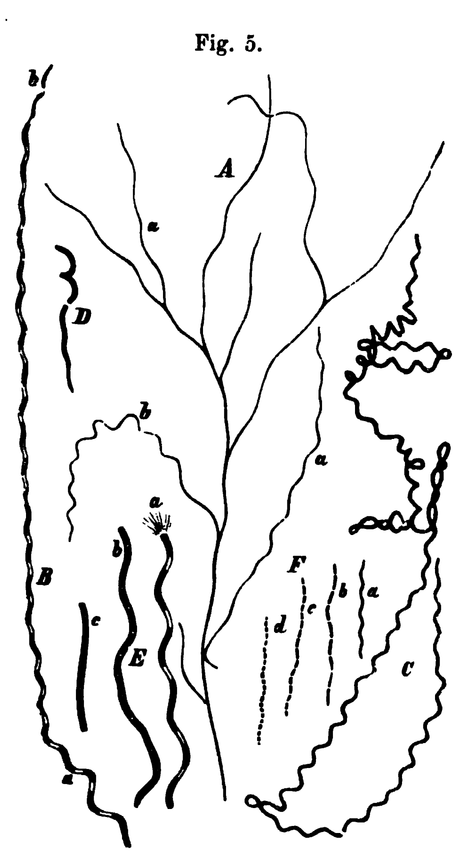
Die bis jetzt mitgetheilten Beobachtungen konnten nicht mit Sicherheit darthun, dass Bakterien weitere Formenkreise durchlaufen, als von Cohn angegeben waren und ergänzten nur dessen Angaben über die Schraubenbakterien, indem für dieselben mit grösster Wahrscheinlichkeit ein ähnlicher kleiner Formenkreis gefunden wurde, wie Cohn ihn für andere Gattungen schon früher ermittelt hatte. Durchaus anders war das Ergebniss der Untersuchungen von Zopf.[2]) Derselbe ermittelte, dass in der Entwicklung von Crenothrix, Beggiatoa und Cladothrix, Fig. 5, die folgenden Formen successive auftreten oder event. sogar gleichzeitig vorhanden sein können: kuglige, von ihm als Mikrokokken bezeichnete Zellen, Kurzstäbchen (Bakterium), Langstäbchen (Bacillus), gerade Fäden (Leptothrix), leicht schraubig gedrehte (Vibrio), stärker gewundene starre schraubige (Spirillum), flexile schraubige Fäden (Spirochaete), peitschenschnurartige, um einander aufgerollte Fäden (Spirulina) und schliesslich

[1]) Bakterium Zopfii. Botanische Zeitung 1883, S. 371.
[2]) Zur Morphologie der Spaltpflanzen, 1882.

Formen, welche der Gattung Ophidomonas, unter Ehrenberg's Monaden entsprachen.

Die Schlussfolgerung von Zopf, dass demnach die beobachteten Formen überhaupt keine Arten. sondern „blosse Entwicklungsstadien von Spaltpilzen“ darstellen, leidet unter der schon angegebenen unrichtigen Interpretation von Cohn's Argumenten. Später hat Zopf noch öfters in dieser durchaus unrichtigen Weise Cohn die Aufstellung eines „Monomorphismus“ zugeschrieben, indem er zum Beispiele [1]) angab: „Das bisher existirende System (das Ehrenberg-Cohn'sche) ist jetzt ein überwundener Standpunkt. denn die in neuerer Zeit entwicklungsgeschichtlich genauer untersuchten Spaltpilze lassen sich unter den Cohnschen Gattungen: Mikrokokkus, Bakterium, Bacillus, Spirillum, Spirochaete, Vibrio, Leptothrix etc. zum Theil gar nicht unterbringen, insofern viele von ihnen zwei oder mehrere der den Cohn'schen Gattungsbegriffen entsprechenden Formen aufweisen.“

Fig. 5.



Cladothrix dichotoma; nach Zopf. A Verzweigte Pflanze mit schwächer (a) und stärker (b) gewundenen schraubenförmigen Zweigen. B Schraube, deren eines Ende (a) stärker gewunden ist als das andere (b). C Langer spirochätenartiger Zweig mit Schlingen und Spirulinen. D Ein Zweigstück mit engen und eins mit flachen Windungen. E Schrauben: a ungegliedert, b mit Andeutung einer Gliederung in längere und c in kürzere Segmente. F Spirochätenform: bei a ungegliedert, bei b bis d schematische Gliederung bei b in längere. c in kürzere Stäbchen und bei d in Kokken.

In Wirklichkeit war Zopf

[1]) Die Spaltpilze, 3. Aufl., 1885, S. 49.

nur berechtigt zu dem Schlusse, dass die von ihm studirten Arten gegenüber den relativ einförmigen, aber nicht monomorphen Arten von Cohn entschieden pleomorph sind.

Dann übertrug Zopf seine Beobachtungen an den erwähnten Arten sehr voreilig auf alle Bakterien, wobei er vorsichtigerweise die Möglichkeit offen liess, „dass einzelne Spaltpilze nur eine sehr beschränkte Zahl von Entwicklungsformen, oder auch nur eine einzige besitzen."

Während Zopf auf Grund einer ganz missverständlichen Auffassung der Formgattungen von Cohn diesen zu widerlegen meinte, führten ihn in Wirklichkeit seine Beobachtungen zu einer sehr entschiedenen Bestätigung des Cardinalpunktes der Ausführungen von Cohn, indem er erklärte, „dass zu einer generischen und specifischen Unterscheidung bei den Spaltpilzgewächsen sicher eben so viel Berechtigung vorhanden ist, wie bei den Spaltalgen, für die Niemand die Möglichkeit einer solchen Unterscheidung bezweifeln wird."

Sachlich würde der strikte Nachweis von der Existenz entschieden pleomorpher Arten die Ausführungen von Cohn wesentlich ergänzen und erweitern, aber natürlich nur in dem einen Falle, dass die von Zopf untersuchten Arten auch zu den Bakterien gehören.

Cohn hatte zuerst den Begriff der Bakterien erweitert und etwas besser abgegrenzt, indem er ausser den von Ehrenberg und Dujardin dahin gerechneten Organismen auch viele der früheren Kugel- und Stäbchenmonaden den Bakterien zuwies. Naegeli[1]) scheint, soweit seine kurzen Angaben darüber urtheilen lassen, den Begriff der Bakterien eben so eng zu fassen wie Cohn 1872 und auf dieselben Formen anzuwenden. Nun fanden sich aber ähnliche Formen nicht nur bei den Bakterien, sondern auch bei den farblosen und den gefärbten Spaltalgen und diese grosse Formübereinstimmung veranlasste Cohn[2]), alle diese Organismen in einer grossen Gruppe des Pflanzenreichs zu vereinigen, welche er Schizophyten oder Spaltpflanzen nannte. Diese Schizophyten theilte er in zwei grosse Gruppen ein, A) Gloeogenae, welche dadurch cha-

1) Die niederen Pilze, 1877, S. 5.
2) Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. I, Heft 3, S. 202.

rakterisirt sind, dass die Zellen frei oder durch Intercellularsubstanz zu Schleimfamilien verbunden sind, während bei der zweiten Gruppe, Nematogenae, die Zellen in Fäden geordnet sind.

Während man bis dahin mehr geneigt war, alle Bakterien aus einem einheitlichen, monophyletischen Gesichtspunkte zu betrachten, brachte Cohn die früheren Bakterien hiermit zum ersten Male in ganz verschiedenen Gruppen unter und gab damit zum ersten Male einen präcisen Ausdruck dafür, dass möglicherweise die Formunterschiede von einem polyphyletischen Ursprunge herrühren. Auf diese Weise kamen manche Bakterien mit bestimmten Spaltalgen ganz nahe zusammen, während andere wieder zu ganz anderen Spaltalgen nähere phylogenetische Beziehungen als zu den übrigen Bakterien haben sollten. So gehören z. B. Mikrokokkus, Bakterium, Sarcina, Merismopedia, Clathrocystis mit einer Reihe zweifelloser Spaltalgen zu den Gloeogenae, während Bacillus, Leptothrix, Vibrio, Spirillum, Spirochaete, Spirulina, Streptokokkus, Myconostoc, Beggiatoa, Cladothrix, Crenothrix mit entschiedenen Spaltalgen zu den Nematogenae gerechnet werden. Bei dieser Eintheilung war dem damaligen Stande der Kenntnisse entsprechend natürlich noch nicht berücksichtigt, dass Leptothrix, Spirulina Myconostoc im älteren Sinne nur Entwicklungszustände und keine Arten sind, es war keine Rücksicht darauf genommen, dass das Bakterium rubescens von Lankester und die Clathrocystis von Cohn nur Entwicklungsstadien von Beggiatoa roseo persicina sind.

Frank[1]) rechnet Beggiatoa, Crenothrix, Cladothrix zu den fadenbildenden Spaltpilzen und motivirt dies l. c. S. 1953 damit, dass, wenn der Mangel an Chlorophyll nach Naegeli zur Abtrennung der Bakterien von den Algen und zur Zurechnung derselben zu den Pilzen zwinge, „dann auch noch gewisse chlorophyllose bisher unter den Algen aufgeführte Gattungen, wie Leptothrix und Beggiatoa“, zu den Spaltpilzen oder Schizomyceten gerechnet werden müssen. Natürlicher scheint es aber Frank, „die nur mit An- oder Abwesenheit des Chlorophylls begründete traditionelle Unterscheidung

---

[1]) Kryptogamen, in Leunis Synopsis der Pflanzenkunde, 1877.

der Pilze und Algen zu verlassen und mit Cohn die Schizomyceten und Phykochromaceen in eine einzige Ordnung zu vereinigen."

In dem System von Rabenhorst-Winter[1]) sind Clathrocystis und Beggiatoa noch von einander getrennt, Beggiatoa und Chladothrix sicher zu den Spaltpilzen d. h. den Bakterien gerechnet, während die Zugehörigkeit von Crenothrix als zweifelhaft hingestellt ist.

Umgekehrt rechnet van Tieghem[2]) Beggiatoa mit andern ausgesprochenen Spaltalgen zu den Nostocaceen, der einen von ihm aufgestellten Gruppe der Spaltpflanzen, während er Crenothrix und Cladothrix zu seiner zweiten Gruppe, den Bakteriaceen stellt. Während van Tieghem früher bei den Bakterien Gattungen und Arten unterschieden hatte, führte er jetzt nur bei den Nostocaceen Genera an, während er bei den Bakteriaceen auf eine Eintheilung in Genera verzichtete und die Gattungsnamen von Cohn nur zur Bezeichnung von „principales formes" verwendet.

Zopf[3]) findet, dass die Unterschiede der beiden Gruppen der Spaltpflanzen nicht so einschneidend sind, wie sie Cohn hingestellt hatte und dass die Spaltalgen, gleichgiltig, ob sie Schleimfamilien oder Fäden bilden, sich leidlich trennen lassen von den nicht Phycochrom führenden Spaltpflanzen und fasst alle nicht Phykochrom führenden Spaltpflanzen wegen der ähnlichen Formen ihrer Einzelzellen und der Verbände der Einzelzellen zu den Bakterien oder Spaltpilzen zusammen. Zopf trennt also im Gegensatze zu Cohn die Spaltpflanzen in die höheren Spaltalgen und die niederen Bakterien oder Spaltpilze und betrachtet die letzteren damit von einem mehr einheitlichen Gesichtspunkte.

Wie hieraus ersichtlich, ist noch durchaus keine volle Einigung erzielt, wie man am natürlichsten die Bakterien gegen die übrigen Spaltpflanzen abgrenzt, doch neigt sich die Mehrzahl der Forscher zur Ansicht, alle nicht Phykochrom führenden resp. alle chlorophyllosen Spaltpflanzen zu den Bakterien zu rechnen und den Begriff der Bakterien damit erheblich gegenüber der Abgrenzung von

[1]) Kryptogamenflora I, 1. Lieferung, 1881.

[2]) Traité de Botanique 1884, S. 1103.

[3]) Zur Morphologie der Spaltpflanzen, 1882.

Cohn von 1872 zu erweitern. Wenn Fisch[1] bei einer Besprechung meiner Methoden der Bakterienforschung angiebt, dass es „auf ein nicht grade richtiges Verständniss des Thatbestandes hindeutet," wenn ich bei Gelegenheit der orientirenden Uebersicht der Formen äusserte, dass die Leptothricheen und Cladothricheen von Zopf, d. h. gerade Beggiatoa, Crenothrix und Cladothrix „früher wegen ihrer Formen den Spaltalgen näher gestellt wurden," so dürfte die Berechtigung dieser Angabe aus dem vorher mitgetheilten wohl genügend hervorgehen.

Erweitert man in der angegebenen Weise den Begriff der Bakterien und rechnet die erwähnten Arten zu den Bakterien, so muss selbstverständlich der Nachweis von Zopf, dass diese früher für relativ einförmig gehaltenen Arten: Beggiatoa, Crenothrix, Cladothrix, sehr formenreich sind oder sein können, von Bedeutung für die Morphologie der Bakterien sein. Man muss dann bestimmt erklären, dass es unter den Bakterien neben den von Cohn aufgestellten relativ einförmigen Arten auch entschieden pleomorphe Arten giebt.

Hierdurch erfährt aber das ursprüngliche System von Cohn keine principielle Widerlegung, sondern nur eine wesentliche Ergänzung und Erweiterung, weil gerade durch diese Arten entschieden bewiesen wird, dass es möglich ist, bei den Bakterien Gattungen und Arten abzugrenzen, wenn man nach Cohn's Vorgang alle Formen berücksichtigt.

Cohn selbst hatte bereits 1877 bei einigen hierher gehörigen höheren Arten den Zusammenhang von geraden und schraubigen Fäden beobachtet und eine Gliederung der Stäbchen und Schrauben in kuglige Zellen eintreten sehen. Da Cohn aber diese Gebilde nicht als Mikrokokken auffasste, weil dieses Wort für ihn nur Gattungsbegriff war, sondern als Gonidien erklärte, werde ich später auf diese Beobachtung noch einmal zurückkommen. Das eine möchte ich nur jetzt schon hervorheben, dass Cohn's Anschauungen auch nach diesen Beobachtungen durchaus nicht mit dem Pleomorphismus principiell in Widerspruch stehen.

---

[1]) Biologisches Centralblatt, Bd. 5, 1885, No. 6.

Der Pleomorphismus an sich hat mit Variationsfähigkeiten der einzelnen Formen gar nichts zu thun, da die einzelnen Formen der pleomorphen Arten constant sein können und sich bei Aenderung der Aussenbedingungen nicht ohne weiteres ändern müssen. Trotzdem ist in völliger Verkennung dieser Sachlage schon die einfache Existenz pleomorpher Arten im Sinne weitgehender Variationsfähigkeit und Inconstanz der Formen gedeutet worden.

Auch für die Bakterien im früheren Sinne wurde von Neuem die Existenz pleomorpher Arten angegeben. Von Jacksch[1]) gab an, dass der Mikrokokkus ureae, bei dem Cohn nur kuglige und ellipsoide Zellen beobachtet hatte, auch in Form von Stäbchen vorkommt und Billet[2]) fand nicht nur kuglige und stäbchenförmige Zellen, sondern auch gerade und wellig gebogene Fäden. Der Nachweis von Leube und Graser[3]), dass eine Art von Kokkus, eine Sarcine und drei Arten von stäbchenförmigen Bakterien die Harnstoffgährung bewirken können, dass bei der spontanen Harnstoffzersetzung fast nie eine einzige Art allein und rein vorkommt, nimmt den Angaben von von Jacksch und Billet jeden Werth, da die von ihnen verwendeten Methoden keine Garantie geben, dass sie von dem Mikrokokkus ureae auch wirklich ausgegangen sind.

H. Buchner[4]) gab an, dass er in der Entwicklung der von Fitz[5]) gefundenen Glycerin-Aethylbakterie die Formen von kugligen, ellipsoiden Zellen, von kürzeren und längeren Stäbchen beobachtet habe. Die eignen Zeichnungen von Buchner zeigen, dass die Stäbchen meist nicht cylindrisch, sondern an einer Stelle etwas stärker aufgetrieben, spindelförmig sind. Derartige Formen hatte Cohn aber gar nicht zu seinen Bacillen gerechnet, sondern[6]) war geneigt, „Stäbchenbakterien von charakteristischer spindelförmiger

[1]) Studien über den Harnstoffpilz. Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 5, 1881, S. 395.

[2]) Sur le bacterium ureae. Comptes rendus 1885, Bd. 100, S. 1252.

[3]) Ueber die ammoniakalische Harngährung. Virchow's Archiv, 1885 Bd. 100, S. 540.

[4]) In Naegeli's Untersuchungen über niedere Pilze, 1882, S. 221.

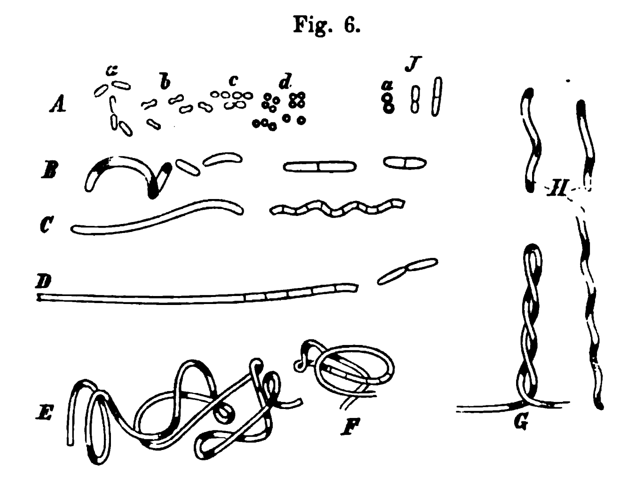
[5]) Ueber Schizomyceten-Gährungen III. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 9, 1878, S. 49.

[6]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, I, 2. Heft, 1872, S. 168.

Gestalt" zu seiner Gattung Mikrobakteria zu stellen. Im übrigen war der Entwicklungskreis derartiger Formen Cohn noch recht wenig bekannt. Da aber der Entwicklungskreis von Cohn's Bakterium termo durchaus nicht gegen derartige Formen bei anderen Mikrobakterien spricht, scheint mir in dieser Beobachtung von Buchner durchaus keine Widerlegung der Ansicht von Cohn zu liegen, sondern nur eine Ergänzung insofern sich ergiebt, dass Spindelstäbchen längere und kürzere Stäbchen und bei der Theilung ellipsoide und selbst kuglige Zellen bilden können. Dieser Formenkreis geht aber kaum über den von Cohn selbst für Bakterium termo angegebenen hinaus.

Für die Bakterien der gewöhnlichen spontanen Milchsäuregährung ermittelte ich [1]) fast dieselben Formen, wie Cohn für das

Fig. 6.



Bakterium termo. indem ich kurze Stäbchen, kleinere Fäden und bei der Theilung der kleineren Stäbchen Zellen beoabchtete, welche nicht mit Sicherheit von kurzen Ellipsen zu unterscheiden waren.

Erst Kurth [2]) gab in einer methodisch einwandsfreien Untersuchung für eine von ihm Bakterium Zopfii genannten Art, Fig. 6,

---

1) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheits-Amte, Bd. II, 1884, S. 339.

2) Bakterium Zopfii. Botanische Zeitung, 1883, No. 23 bis 26.

an, dass bei derselben kuglige und eiförmige, als Kokken bezeichnete Zellen, A, b, c, d, ferner kürzere, A, a, und längere, B, Stäbchen vorkommen. Die Einzelzellen bilden kürzere oder längere Fäden, C, D, welche bald deutlich gegliedert, bald ungegliedert scheinen.

Die Fäden sind bald gerade, D, bald leicht wellig gebogen, C, bald bilden sie Verschlingungen, E, F; dabei bilden sich bisweilen einfache Schleifen oder auch peitschenschnurartige Umschlingungen. G, und einzelne Stücke der Fäden können deutliche, flache Schrauben, H, bilden. Die Länge der sicher einzelligen Stäbchen schwankt je nach dem Stadium der Entwicklung beträchtlich von 4 bis 10 μ oder von 3 bis 8 μ und beträgt im Durchschnitt 5 μ, während die Länge der Fäden bis zu 150 μ betragen kann. Eine Zusammensetzung der Fäden und Stäbchen aus isodiametrischen Gliedern weist Kurth entschieden zurück. Dieser Formcyklus trat in verschiedenen Medien ein, aber die qualitative und quantitative Aenderung der Nährsubstrate war ohne Einfluss auf die einzelnen Formen.

Aus den bisher in Betracht gezogenen Untersuchungen geht hervor, dass die Cardinalpunkte der Ausführungen von Cohn sich allen Angriffen gegenüber als wohl begründet bewährt haben, dass man Gattungen und Arten unter den Bakterien unterscheiden kann, wenn man alle Formen in Betracht zieht. Für die relativ einförmigen Arten der Bakterien im früheren Sinne haben sich die von Cohn aufgestellten Formmerkmale fast durchgängig als ausreichend zur Abgrenzung von Formarten erwiesen.

Aber das System von Cohn bedarf einer Reihe von Ergänzungen, welche sich vor Allem aus folgenden Ermittelungen ergeben: Arten, deren vegetative Stadien durch spindelförmige oder kurze Stäbchen dargestellt werden, sind wahrscheinlich noch etwas schwieriger gegen die Formgattungen Mikrokokkus und Bacillus abzugrenzen, als es Cohn schon dargestellt hatte. Die Formgattungen der Schraubenbakterien bedürfen einer gründlichen Revision, da die von Cohn angegebenen Formmerkmale sehr unsicher und innerhalb der einzelnen Gattungen zu schwankend sind. Auch unter den Bakterien im früheren Sinne giebt es neben den relativ einförmigen Arten pleo-

morphe Arten. Es werden jetzt zu den Bakterien pleomorphe Arten gerechnet, welche man früher nicht zu den Bakterien gestellt hatte.

Diese Ergänzungen und Erweiterungen des ursprünglichen System's von Cohn glaubte ich[1]) dahin zusammenfassen zu können, „dass, je höher die Spaltpflanzen im System stehen, mit desto grösserer Wahrscheinlichkeit auch in ihrer Ontogenese die phylogenetisch niedriger stehenden Formspecies als blosse Wuchsformen auftreten können."

Aber alle diese Ermittelungen gelten strikte nur für den Fall der gleichbleibenden Aussenverhältnisse oder doch solcher Lebensbedingungen, welche denen des spontanen Vorkommens der Art gleich oder sehr ähnlich sind. Daraus folgt aber nicht ohne Weiteres, dass diese Formmerkmale schlechthin constante sind und es ist erst an der Hand von directen Versuchen zu prüfen, welchen Einfluss Veränderungen des Substrates auf die Formen haben.

VI.

Passt sich die Form geänderten Aussenverhältnissen an? Breite der Variabilität. Gestattet die Gesammtheit der Formen ächte Arten oder nur Formarten abzugrenzen?

Besonders war es Naegeli[2]), der sich von Neuem, und zwar wieder unter vollständiger Ignorirung der Motive von Cohn, gegen dessen „gattungs- und artenreiches System" wandte, weil es nach seiner Ansicht gar „keinen wissenschaftlichen Werth" hat, „ein System der Spaltpilze nach Gattungen und Arten mit den jetzigen Hülfsmitteln" aufzustellen. Wenn man sich erinnert, dass Naegeli früher mit ebenso unzureichenden Mitteln ein ausserordentlich gattungsreiches System der einzelligen Algen[3]) aufstellte und wenn

---

1) Deutsche med. Wochenschrift, 1884, No. 48 bis 50.

2) Zur Umwandlung der Spaltpilzformen. Untersuchungen über niedere Pilze, 1882, S. 129.

3) Gattungen einzelliger Algen, 1849, S. 40.

man sich der Motivirung von Cohn erinnert und beachtet, dass Cohn das Provisorische seiner Eintheilung wiederholt hervorgehoben hat, so ist es etwas schwer zu verstehen, wie Naegeli die Form, in der Cohn seine Klärungsversuche vortrug, eine „anspruchsvolle" nennen kann.

Naegeli spricht sich seinerseits über die der Species subordinirten Begriffe folgendermaassen aus: „Die Varietäten sind wie die Arten von säcularer Constanz; ihre Umwandlung erfordert Zeiträume, die nach Erdperioden gemessen werden; sie entziehen sich aller experimenteller Behandlung; die Züchtung vermag an ihnen nichts zu ändern. Rassen und (Ernährungs- oder Standorts-) Modificationen dagegen sind vorübergehende Erscheinungen, die durch unseren Einfluss bestimmt und geregelt werden können. Und zwar entstehen die Rassen durch Kreuzung verschiedener Varietäten und Arten, können also blos bei Organismen mit Geschlechtsdifferenz vorkommen. Die Modificationen aber werden durch die unmittelbare Einwirkung des Klimas und der Nahrung erzeugt und können nur bestehen, so lange die sie bedingenden Einflüsse andauern. Bei den Spaltpilzen, sowie überhaupt bei den niedersten Pflanzen ist die Rassenbildung ausgeschlossen, bei ihnen können innerhalb der constanten Arten und Varietäten blos Ernährungsmodificationen vorkommen."

„Die Merkmale der Arten und Varietäten sind für unsere Erfahrung schlechthin constant, da wir in den aufeinander folgenden Generationen sie sich nicht verändern sehen. Ihnen gegenüber sind die Modificationen als schlechthin veränderlich zu bezeichnen. Die letzteren bleiben zwar unverändert, so lange sie unter den nämlichen äusseren Verhältnissen leben. Dies ist aber nicht Constanz im naturwissenschaftlichen Sinne, welcher nur dasjenige als constant anerkennt, was unter den verschiedensten äusseren Verhältnissen in bestimmbaren Zeiten unverändert bleibt, wie dies mit den Species und den ächten Varietäten der Fall ist.

Die Unveränderlichkeit einer Spaltpilzform, die unter gleichbleibenden äusseren Einflüssen sich befindet, wird daher mit Unrecht der Constanz der Varietäten oder Species gleichgestellt und mit Unrecht wird damit die Speciesnatur der Spaltpilzformen behauptet.

Den Modificationen kommt nur ein Schein von wirklicher Constanz zu, insofern, als sie den äusseren Verhältnissen eine gewisse Zähigkeit entgegensetzen und nicht sofort, sondern erst nach einiger Zeit sich ihnen entsprechend umwandeln."

Für Nägeli sind bei den Bakterien die morphologischen und physiologischen Merkmale schlechthin veränderlich, weil einerseits „alle wahrnehmbaren Formen durch Uebergänge verbunden sind" und weil andererseits, wie er auf Grund einiger Versuche annimmt, „kein der Beobachtung zugängliches Merkmal sich gegenüber von richtig angestellten Kulturversuchen als beständig erweist".

Wir haben damit die bestimmte Aufgabe, die Angaben zu prüfen und zu sichten, welche für Variabilität geltend gemacht wurden, und besonders zu beachten, ob einmal überhaupt irgend welche Variabilität sicher ist und dann zu sehen, welchen speciellen Werth diese Ermittelungen für den Speciesbegriff haben.

In einer Arbeit über Pigmentbakterien in Verbandstoffen kommt Urlichs[1]) zur Ansicht, dass „die chromogenen Bakterien auf unseren Verbandstoffen, die gelben, rothen und blauen, thatsächlich in einander übergehen und dass sie alle ungefärbte Repräsentanten in der Pasteur'schen Nährflüssigkeit haben, die, auf geeigneten Boden, namentlich gut granulirende Geschwüre und Wunden, versetzt, einen und denselben Farbstoff, das Pyocyanin, erzeugen".

Dem gegenüber konnte ich auf Grund meiner inzwischen noch weiter ergänzten Untersuchungen[2]) über Pigmentbakterien und Bakterienpigmente die älteren Angaben von Schröter[3]) in den wichtigsten Punkten bestätigen und erweitern durch den strikten Nachweis, dass die Aenderungen der Pigmente rein chemische Farbenreactionen sind und sich bald als Oxydations- und Reductionsvorgänge darstellen, bald durch die Veränderungen der Reaction bedingt sind und dass es sich nicht um einen einheitlichen Farbstoff handelt, sondern die Farben verschiedene Gruppen der aromatischen Reihe angehören.

---

1) Arch. f. klin. Chirurgie, Bd. 24, 1879, S. 303.

2) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte II. 1884, S. 355 und deutsche med. Wochenschrift, 1884, No. 48 bis 50.

3) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. 1, Heft 2, 1872, S. 109.

Die Formen der Pigmentbakterien waren nicht starr, sondern sie änderten sich, abgesehen selbstverständlich von den Veränderungen durch die Theilung, etwas mit Aenderung der Aussenbedingungen einmal insofern als die Verbindungsweise der Einzelzellen zu Fäden oder Zoogloen nicht absolut gleich blieb und ferner aber in erheblich geringerem Maasse auch dadurch, dass bei einzelnen Arten die vegetativen Formen kleine Formabweichungen erfuhren insofern als sie nicht in allen Medien dieselben Relationen behielten. Hierauf waren von Einfluss der Chemismus des Mediums, sodass in wenig zusagenden Lösungen weniger kräftige Formen vorkamen, und der Mechanismus des Substrates, indem im Innern fester Medien die Formen nicht so kräftig waren wie am Rande der sich ausbreitenden Colonien. In keinem einzigen Falle ging aber die wirkliche Anpassung so weit, dass etwa in dem einen Medium ganz andere vegetative Formen typisch wiederkehrten als in einem anderen, etwa in einem Medium ausgesprochene Kugeln, in einem anderen Stäbchen typisch waren. Immer handelte es sich nur um kleine Abweichungen einer bestimmten Form, insofern, als z. B. die Stäbchen bald etwas länger oder kürzer, breiter oder schmäler waren. Etwas weitergehende Formabweichungen erwiesen sich in einzelnen Fällen, in denen sie zur Beobachtung kamen, als pathologische, indem körniger Zerfall der Zellen oder Involutionsformen sich bildeten.

Eine weitergehende Anpassung der Form an das Substrat hat Buchner[1]) für die Heubakterien, Fig. 7, angegeben. Buchner ging von der Voraussetzung aus, dass bei einer bestimmten Erhitzungsweise des Heuinfus in diesem später immer nur die eine, mit Cohn's Bacillus subtilis identische Art zur Entwicklung kommt, dass also Abweichungen der Form auch Variationsfähigkeit der Formen dieser Art beweisen. Diese Voraussetzung ist aber, wie ich in zahlreichen Versuchen fand, welche ich zur Ermittlung der Grenzen der Erhitzungsmethode[2]) anstellte, durchaus nicht sicher begründet. Man kann auf diese Weise sicher zwei, vielleicht sogar drei Arten von Bacillen

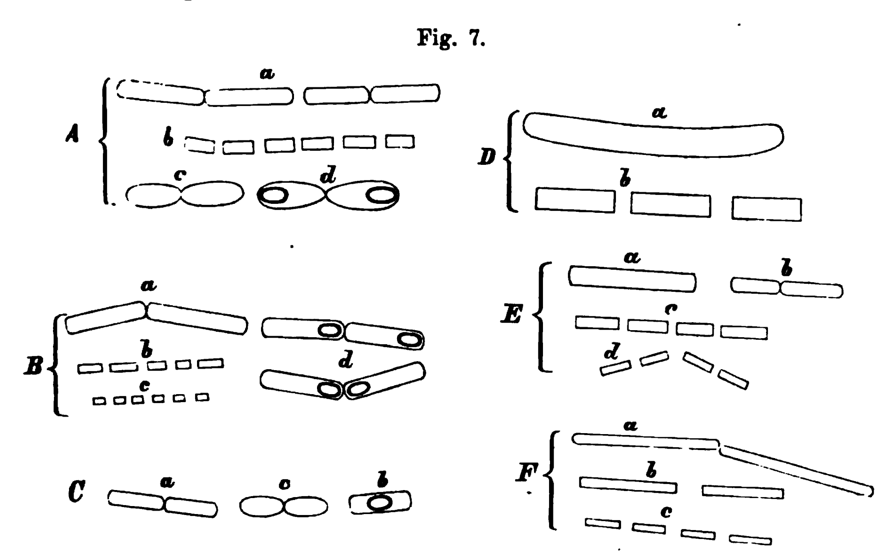
---

[1]) Beiträge zur Morphologie der Spaltpilze. Nägli's Untersuchungen über niedere Pilze, 1882, S. 205.

[2]) Die Methoden der Bakterien-Forschung, 1. und 2. Aufl., 1885, S. 94; 3. Aufl., 1886, S. 137.

erhalten, welche durch die Gesammtheit der Formen, Art der Sporenbildung und der Sporenauskeimung und biologische Differenzen auseinander zu halten sind, trotz grosser Aehnlichkeit einzelner Entwicklungsstadien. [1]) Auch Kurth hatte bereits früher eine derartige Beobachtung mitgetheilt.

Fig. 7.



Nach H. Buchner. Heubakterien. A Heuaufguss Sp. G. 1,006; 24 Stunden bei 36^0 cultivirt; a gerade Stäbchen von 2 bis 5 μ Länge und 0,9 bis 1 μ Breite; b Jodzusatz, Länge der Glieder 1,2 bis 1.5 μ; c Spindelstäbchen; d Sporenbildung

B 0,1$^0/_0$ Fleischextract mit 5$^0/_0$ Zucker, neutral; a. Breite 0,8 μ, Länge 4 bis 6 μ; b und c Jodzusatz. kürzeste Glieder 0,8 μ lang und breit; d Sporenbildung.

C 0,1$^0/_0$ Asparagin mit 5$^0/_0$ Zucker, neutral; a die kürzesten geraden Stäbchen 0,8 μ breit, 1,5 μ lang; b Sporenbildung; c Spindelstäbchen.

D Heuaufguss Sp. G. 1,004; 24 Stunden bei 22^0 cultivirt. a Breite 1,0 μ, kürzeste Glieder 12 μ; b. Jodzusatz.

E 1$^0/_0$ Fleischextract, schwach sauer. a aus Decke; b aus Bodensatz; Breite 0,7 μ, Länge der kürzesten Glieder 2 μ, der längsten 5 μ; c und d Jodzusatz, kürzeste Glieder 1 μ, längste nur 2,5 μ.

F 5$^0/_0$ Fleischextract, schwach alkalisch. Breite 0,5 μ, Länge der Glieder 6 bis 10 μ; b und c Jodzusatz; kürzeste Glieder 1,5, längste 4 μ. [b und d der Figur E und c der Figur F etwas zu schmal gezeichnet].

Die ausserordentliche Wichtigkeit des Gegenstandes rechtfertigt auf jeden Fall den Versuch zu sehen, ob die eignen Angaben und

[1]) Aehnlicher Ansicht ist de Bary in seinen während des Druckes erschienenen Vorlesungen über Bakterien, 1885, welche ich nicht mehr genauer berücksichtigen konnte.

Zeichnungen von Buchner Anhaltspunkte dafür geben, dass Buchner vielleicht nur solche ähnliche aber nicht identische Arten vor sich hatte.

Ich habe deshalb die Formen, bei denen Buchner die Sporenhaltigen Zellen mitgezeichnet, vorangestellt, weil aus später genauer zu erörternden Gründen die Sporenbildung eine viel grössere Bedeutung hat als die meisten übrigen Formmerkmale. Im Allgemeinen ist noch zu den Zeichnungen zu bemerken, dass dieselben von Buchner etwas schematisch gehalten und so gezeichnet sind, wie er sie sich bei 4000 maliger Vergrösserung denkt, so dass also bei der wirklich zugänglichen Vergrösserung die Differenzen beträchtlich geringer sind. Sofort fällt es auf, dass die vegetativen Zellen a der Figur A, B, C und E nicht sehr different sind, aber die Sporenbildung der Figur A zeigt beträchtliche Differenzen gegenüber B und C. Bei A ändert sich die Form der geraden Stäbchen a vor der Sporenbildung zu einer Spindel c und in diesen erweiterten Zellen bilden sich bei d die Sporen. In B ändert sich die Form der Zelle zur Sporenbildung, d, nicht; in C tritt scheinbar eine Veränderung der Zelle, c, als Vorbereitung zur Sporenbildung ein, aber die Spore bildet sich schliesslich bei b in einer nicht besonders veränderten Zelle.

Als ich bei meinen Versuchen Bacillus subtilis von Cohn unter die Versuchsbedingungen der Fig. A brachte, erhielt ich die Sporenbildung der Fig. B, d und nicht die der Fig. A, d, so dass also bei meinen Versuchen eine ganz entschieden geringere Formabweichung vorhanden war. Eine andere Formabweichung fand Buchner, wenn er dieselbe Art einmal bei 22° unter die Bedingungen der Fig. D brachte, während bei nur wenig geänderten Bedingungen bei 36° die Formen der Fig. A resultirten. Bei meinen identischen Versuchen war von solchen Abweichungen keine Rede, sondern ich erhielt die Formen der Fig. B und nicht die von A und D.

Ich führe meine Erfahrungen über Heubakterien nur an, zum Beweise, dass diese Frage noch keineswegs so klar und abgeschlossen ist, wie Buchner sie glaubte erwiesen zu haben. Die Abweichungen der Formen, welche ich gefunden habe, waren höchstens so gross, wie zwischen den Zellen a der Figuren A, B, C, E und F, aber nicht so gross

wie zwischen a der Figuren D und F; eine wirkliche Aenderung der Form habe ich bei Aenderung der Aussenbedingungen nicht gefunden, sondern nur geringfügige Schwankungen in den Längen- und Breitendimensionen. Der kritiklose Enthusiasmus, mit dem Zopf die Angaben von Buchner besonders gegenüber den Anschauungen von Cohn und Koch aufgenommen hat, ist sehr wenig berechtigt und es ist erst Aufgabe der weiteren Forschung, unter Beachtung aller Cautelen und unter ganz besonderer Rücksicht auf die Bildung und Auskeimung der Sporen zu entscheiden, ob wirklich der Bacillus subtilis von Cohn sich bei Aenderung der Aussenbedingungen so entschieden in Form und Sporenbildung ändern kann oder ob nicht vielmehr, wie mir die Sache zu liegen scheint, die wirkliche Anpassung der Formen an das Substrat eine geringfügige ist, welche die Artconstanz gar nicht alterirt. Die zweifelhafte Sachlage lässt auf jeden Fall die Wahrscheinlichkeit zu, dass Buchner nicht überall Variationen der Formen einer Art vor sich hatte, sondern zum Theil nur die differenten Formen verschiedener Arten.

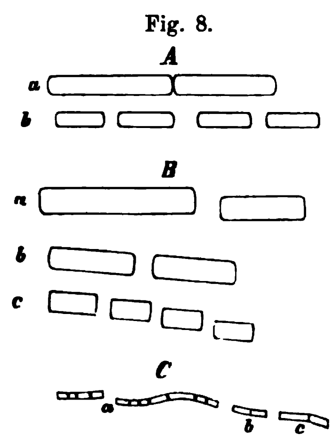
Während alle früheren Beobachter nur kürzere und längere Stäbchen, aber keine isodiametrischen Glieder bei Bacillus subtilis gefunden hatten, glaubt Buchner, „dass die einzelne Zelle bei den Heubakterien in der Regel isodiametrische Gestalt besitzt" und versucht diese Meinung zu stützen durch die Zeichnungen A, b; B, b und c und die weiteren D, b; E, c und d; F, c, welche alle den Einfluss des Jod auf die vegetativen Zellen zeigen. Durch Jodzusatz erfahren die Glieder eine wesentliche Schrumpfung und es wird im Allgemeinen eine weitergehende Gliederung angezeigt, als ohne Reagentien sichtbar ist. Aber von einer Zusammensetzung aus isodiametrischen Gliedern zeigen die eigenen Zeichnungen von Buchner nichts und selbst die kleinsten Formen c der Figur B sind immer noch kurze cylindrische Glieder und vor Allem fehlt jede Uebereinstimmung der einzelnen Formen untereinander, so dass Buchner nur wie die Meisten bald längere, bald kürzere Einzelglieder beobachtete.

Die Untersuchungen und Photogramme von Koch [1]) haben

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, II. Heft, 3, 1877, S. 399 und Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, I, 1881.

ergeben, dass die Milzbrandbacillen nach den Medien und zum Theil nach der Art der Präparation kleine Formabweichungen zeigen können. Diese Formabweichungen untereinander waren aber, wenn man die Vergrösserung der wirklichen Beobachtung Fig 8, C. zu Grunde legt, relativ unbedeutend und so constant, dass Koch die nur mikroskopisch wahrnehmbaren Formabweichungen vom Bacillus subtilis als ein Unterscheidungsmerkmal beider Arten erklären konnte. Die Formabweichungen, welche Buchner durch die Zeichnungen A und B bei 4000 maliger Vergrösserung gefunden haben will, beschränken sich auf ganz unbedeutende Veränderungen des Verhältnisses von Länge zu Breite. Der Jodzusatz zeigte A, b und B, b und c keine Zusammensetzung aus isodiametrischen Gliedern. Archangelski[1]) und Roloff[2]) wollen dagegen im Entwicklungskreise der Milzbrandbacillen auch kokkenähnliche Körperchen beobachtet haben, ohne dass aber aus den ungenauen Angaben zu ersehen ist, was diese Kokken eigentlich sein sollen. In Peptonlösungen sah de Bary[3]) „die Fäden des Milzbrandbacillus in grosser Ausdehnung zerfallen in runde, zu traubigen oder klumpigen Gruppen sich anhäufende Glieder, also Kokken. Dieselben erwiesen sich mit zweifelhaften Ausnahmen als todt.“ Das Auftreten dieser „Kokken“ war demnach eine ausgesprochene pathologische Erscheinung, ein Zeichen des Todes, aber kein Zeichen des Lebens, wie bei vegetativen Kokken.

Fig. 8.



Milzbrandbrandbacillen A und B bei 4000 facher Vergrösser. nach Buchner. C bei 700 facher Vergrösserung nach Photogrammen von Koch.
A aus Milz der Maus, frisch, Breite 0,8 μ, Länge der kürzesten Glieder 4,5 μ, der längsten 7 μ; b Jodzusatz; Länge der Glieder von 2,5 μ
B 2% Fleischextract, schwach alkalisch, a Breite 1,2 bis 1,4 μ, Länge der kürzesten Glieder 4 μ; b und c Jodtinctur.
C a aus Milz von Maus; b aus Lebercapillaren von Kaninchen; c aus Milz von Ratte.

---

1) Centralblatt f. d. med. Wissenschaften, 1882, No. 15.

2) Arch. f. wissensch. und praktische Thierheilkunde, Bd. 9, 1883, S. 459.

3) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, 1884, S. 504.

Es fehlt demnach bis jetzt jeder Beweis, dass in der normalen Entwicklung lebensfähige isodiametrische Glieder auftreten können.

Bei den Tuberkelbacillen will Zopf[1]) in älteren Lungenherden auch kuglige Zellen oder Kokken gefunden haben und er bildet dieselben zum Theil als eine nicht unterbrochene Reihe, zum Theil aber als eine unterbrochene Reihe von kleinen Kügelchen ab, wie man sie beobachtet, wenn sich in den kleinsten Stäbchen Sporen finden, so dass nur der zur Sporenbildung nicht verwendete Protoplasmarest des Stäbchens sich noch färbt. Biedert[2]) giebt gleichfalls an, die Tuberkelbacillen in eine ununterbrochene Körnerreihe zerfallen gesehen zu haben; aber er fasst derartige Körner oder „Kokken“ nicht als normale Theilungsproducte oder eine Anpassungsform auf, sondern als Degenerationsformen, „da die Organismen bei weiterer Aussaat sich nur spärlich weiter entwickelten“. Bis jetzt fehlt jeder Nachweis, dass bei den Tuberkelbacillen in der normalen Entwicklung andere Formen als kürzere oder längere Stäbchen und kleine Fäden vorkommen und von einer Anpassung dieser Formen an geänderte Bedingungen oder von einer besonderen Anpassungsform weiss man noch nichts. Uebrigens sind die Tuberkelbacillen zur Entscheidung so schwieriger Fragen recht wenig geeignet, weil sie einmal an und für sich schon sehr klein sind und vor Allem, weil sie sich so langsam entwickeln, dass die lückenlose Beobachtung in der feuchten Kammer auf kaum oder nur sehr schwer zu überwindende Schwierigkeiten stösst.

Nach Fitz[3]) wird die normaler Weise kurzcylindrische Form (0,7 bis 1 μ breit und 1,8 bis 2,4 μ lang) der Zellen einer Bakterienart, welche milchsauren Kalk in buttersauren Kalk als Hauptproduct vergährt, im Vaccum „kleiner, namentlich kürzer und nähert sich der Mikrokokkenform“. Umgekehrt wird die Form in Zuckerfleischextractlösungen, welche wegen fehlenden Zusatzes von Calciumcarbonat sauer wurden, „mit zunehmendem Säuregehalt immer grösser,

[1]) Die Spaltpilze, 3. Auflage. 1885, S. 85.

[2]) Virchow's Archiv, Bd. 100, 1885, S. 451.

[3]) Ueber Spaltpilzgährungen, IX. Berichte der deutschen und chemischen Gesellschaft, XVII. 1884, S. 1188.

die Breite erreicht 1,5 μ, die Länge 7 bis 8 μ, einzelne Zellen erreichen eine noch darüber hinausgehende monströse Länge".

Die vegetativen Formen bewegen sich demnach je nach dem Medium zwischen ganz kurzen und sehr langen Stäbchen in einer Variationsbreite, welche mindenstens so weit geht, wie Buchner sie für die Heubacillen angenommen hatte. Leider sind die Angaben entwicklungsgeschichtlich nicht genügend, so dass ein sicheres Urtheil schwer zu gewinnen ist, doch ist die Wahrscheinlichkeit nahe gelegt, dass in bestimmten Fällen eine weitgehende Anpassung an das Substrat vorkommen kann.

Bei Bacillus megaterium, dessen kürzeste Glieder nach der Theilung an sich schon nicht ganz leicht zu beurtheilen sind, beobachtete de Bary [2]), dass die glatten cylindrischen Stäbchen in deutlich gegliederte und in Ketten verbunden bleibende isodiametrische Zellen zerfallen können, wenn die Kulturen durch andere Bakterien verunreinigt waren. Da „die torulöse Kettenform durch reinere Kultur wieder in jene der glatten Stäbchen übergeführt werden" konnte, waren diese isodiametrischen Glieder vermuthlich eine lebenskräftige „Kokkenform" und keine Degenerationsform.

In diesem Falle würde erst die Concurrenz mit anderen Bakterien im Stande sein, den unter normalen Verhältnissen nicht eintretenden Zerfall in isodiametrische Glieder herbeizuführen, während die Bacillen sonst nur in Form von kurzen und langen Stäbchen und von Fäden vorkommen. Diese normalen Formen ändern sich übrigens mit Aenderung der Aussenbedingungen fast gar nicht in ihren Dimensionen.

Dass die isodiametrischen Glieder, also eine ganz neue Form, etwa eine besonders leistungsfähige vegetative Form vorstellen, hat de Bary nicht beobachtet, sondern im Gegentheil diese Form nur gefunden, wenn andere Arten leistungsfähiger waren und Bacillus megaterium nicht seine grössten vegetativen Leistungen entfaltete, sondern im Kampfe ums Dasein unterlag. Der wirkliche Werth dieser Form ist damit aber noch nicht ermittelt. Zunächst ist es in Bakteriengemischen sehr schwer mit Bestimmtheit zu sagen, dass

---

[2]) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, 1884, S. 503.

alle Stäbchen ausnahmslos zerfallen und dass nicht vielleicht einige unveränderte Stäbchen vorhanden sind, oder dass sich beim Erliegen gegenüber den anderen Bakterien nicht vielleicht Sporen gebildet haben, von denen dann später die neuen Generationen ihren Ursprung nehmen können. Aber selbst wenn diese beiden Einwürfe bestimmt ausgeschlossen sind, können vielleicht neue Kulturen gelingen, wenn man nicht lange mit dem Umzüchten wartet nach dem Eintreten dieses Zerfalls, während bei längerem Warten die Kulturen vielleicht definitiv wirkungslos geworden sind.

Es ist wohl von de Bary gezeigt, dass unter ungünstigen Verhältnissen eine andere wenig leistungsfähige Form auftreten kann, aber es ist damit nicht entschieden, dass diese Form eine wirkliche Anpassung an diese neuen Verhältnisse ist, sondern man muss die Möglichkeit offen halten, dass das Auftreten dieser neuen Form im Gegentheil das erste sichtbare Zeichen ist, dass die Art unter diesen Verhältnissen sich nicht wirklich anzupassen vermag, sondern dass sie im Kampfe ums Dasein erliegt. Die Kokkenform kann unter den angegebenen Verhältnissen den Beginn einer Degeneration der Kultur anzeigen, welche allmählich zu einer vollständigen Vernichtung der Kultur führt, während in früheren Stadien noch die Möglichkeit einer Rückführung in lebensfähige Kulturen gegeben ist. Beobachtungen über die Entstehung der Degenerationsformen von Milzbrand-, Heu- und Kommabacillen machen mir diesen Schluss wahrscheinlich.

Für die Typhusbakterien ermittelte Gaffky [1]), dass die einzelnen Stäbchen in Blutserum und Fleischinfus trotz energischen Wachsthums geringere Dimensionen haben als auf Kartoffeln und Nährgelatine und eine geringere Neigung zur Bildung von Fäden zeigen. Auch bei ausgesprochenen Kokkenformen ist eine Schwankung in der Dimension der einzelnen Zellen für die Mikrokokken der Gonorrhoe von Bumm [2]) angegeben worden.

Eine sehr weitgehende Anpassungsfähigkeit an geänderte Aussenbedingungen ist für die sogenannten Kommabacillen behauptet worden.

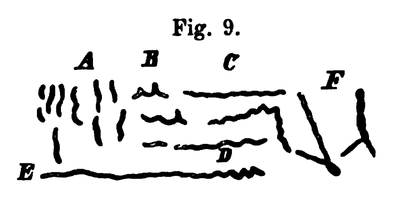
---

1) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, II, 1884, S. 389.

2) Der Mikro-Organismus der Gonorrhoischen Schleimhaut-Erkrankungen, 1885, Seite 32.

Das vegetative Stadium dieser Bakterien, Fig. 9, A, wird von scheinbar einfach gekrümmten, in Wirklichkeit aber leicht schraubig gedrehten Stäbchen gebildet, ähnlich wie bei den Vibrionen Fig. 3, C und Spirillen Fig. 4, A, b und c; bei dem Zusammenbleiben entstehen zunächst *s*-förmige kurze Fädchen, Fig. 9, bei A, wie bei den Vibrionen Fig 1, F und Spirillen Fig. 1, K, Fig. 4, A, a' und a''. Häufig wachsen aber auch die Kommabacillen, wie Koch[2]) von Anfang an und vollständig correct angegeben hat, „zu mehr oder weniger langen Fäden aus. Sie bilden dann aber nicht gerade Fäden, wie andere Bacillen, z. B. die Milzbrandbacillen, oder wie es nach dem Aussehen des mikroskopischen Bildes erscheinen könnte, einfach wellenförmig gestaltete Fäden, sondern sehr zierliche, lange Schrauben, die, was ihre Länge und ihr übriges Aussehen anbetrifft, die grösste Aehnlichkeit mit den Recurrens-Spirochäten haben. Ich würde sie, wenn man beide neben einander hätte, nicht von einander unterscheiden können. Wegen dieser eigenthümlichen Entwicklungsform neige ich mich auch der Ansicht zu, dass der Kommabacillus gar kein echter Bacillus ist, dass er eigentlich eine Uebergangsform zwischen Bacillen und Spirillen bildet. Möglicherweise handelt es sich hier sogar um ein ächtes Spirillum, von dem wir ein Bruchstück vor uns haben. Man sieht auch bei anderen Spirillen, z. B. Spirillum undula, dass ganz kurze Exemplare nicht eine vollständige Schraubenwindung bilden, sondern nur noch aus einem kurzen Stäbchen bestehen, welches mehr oder weniger gekrümmt ist".

Fig. 9.



Gegenüber einigen unklaren morphologischen Angaben, welche durch den rasch populär gewordenen Laboratiumsausdruck „Kommabacillus" hervorgerufen waren, erklärte ich bald darauf auf der Naturforscherversammlung zu Magdeburg 1884[1]), dass man die

---

[1]) Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage. Berl. klien. Wochenschrift und deutsche med. Wochenschrift, 1884, No. 31.

[2]) Tageblatt, S. 222 und Deutsche med. Wochenschrift, 1884, No. 40.

Kommabacillen wegen ihrer Wuchsformen wohl am besten als Vibrionen bezeichnen würde.

Lang bevor also Gegner von Koch in die Lage kamen etwas über diese Bakterien mittheilen zu können, waren die wichtigsten morphologischen Kriterien der „Kommabacillen“ von Koch und mir vollständig erkannt und richtig gestellt, so dass der Eifer mit dem besonders Gruber[1]) den Namen „Kommabacillus“ benützt um Koch und seinen Schülern eine Lection über Morphologie der Bakterien im Allgemeinen und die der Vibrionen im Speciellen zu ertheilen, mehr komisch wirken musste, weil diese Belehrung gar zu sehr post festum kam. Als Wuchsformen der von Koch bei cholera asiatica gefundenen Bakterien waren demnach, als in den normalen Entwicklungskreis der Art gehörig sicher gestellt, das kommaähnlich gekrümmte, schraubige Stäbchen und der schraubige Faden. Dieselben Formen wurden von Koch[2]), van Ermengem[3]), Gruber, Buchner[4]), Finkler und Prior[5]) für die von letzteren bei Cholera nostras einige Mal beobachteten, von ihnen morphologisch zuerst[6]) nicht vollständig erkannten Kommabacillen gefunden. Dasselbe beobachtete Deneke[7]) bei einer aus Käse kultivirten ähnlichen Art.

In verschiedenen Medien wollen nun Gruber und Buchner einen grösseren Formenkreis beobachtet haben, indem sie bei den Finkler-Prior'schen Bakterien übereinstimmend bisweilen neben den schon erwähnten Formen auch „Kugel-, Spindel- und Flaschenformen“ und „Monadenformen“ fanden und zwar derart, dass dieselben in bestimmten Medien mit besonderer Vorliebe wiederkehrten; Gruber ist in der Deutung dieser Befunde kurz entschlossen und findet, allerdings dabei wie sein Lehrer Nägeli, Cohn's Argumente

1) Wiener med. Wochenschrift, 1885, No. 9 und 10.

2) Deutsche med. Wochenschrift, 1884, No. 45.

3) Recherches sur le microbe du choléra asiatique, 1885.

4) Sitzungsberichte der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München, I, 1885, S. 1.

5) Forschungen über Cholerabakterien, 1885.

6) Deutsche med. Wochenschrift, 1884, No. 36 und 39, Tageblatt der Naturforscher-Versammlung zu Magdeburg, 1884, S. 216.

7) Deutsche med. Wochenschrift, 1885, No. 3.

vollständig missverstehend und angeblich gegen Koch's Auffassung „durch das Berichtete sei der Beweis für die Variabilität der Bakterien erbracht. Kokkus, Bakterium, Spirillum u. s. w. sind Wuchsformen, nicht Artunterschiede". Buchner würdigt diese Formen etwas genauer und vermag in ihnen nur „pathologische Zustände" zu erblicken und hält die von ihm und Gruber beobachteten Formen „mit Ausnahme der Schraubenstäbchen und Spirillen" für Degenerationsformen.

Schon Koch hatte bei seinen Kommabacillen derartige Degenerationsformen gefunden, in noch grösserer Ausdehnung van Ermengem und Ferran[1]), welcher Letzterer dieselben sogar als Fructificationsorgane aufgefasst und die Kommabacillen deshalb als eine Peronospora erklärt hatte. Fast dieselben Formen wie Buchner und Gruber habe ich bei beiden Arten und in etwas geringerem Maasse auch bei den Deneke'schen Bakterien gefunden, aber immer als entschieden entartete Formen. Zweifellos geht aus der Gesammtheit dieser Beobachtungen hervor, dass Koch die normalen Formen vollständig richtig erkannt hat und dass in der normalen Entwicklung als Wuchsformen nur kürzere und längere Schraubenstäbchen und kürzere und längere Schraubenfäden vorkommen.

Die pathologischen Formen haben mit einer Anpassung an geänderte Aussenbedingungen nichts zu thun, da die wirkliche Anpassung als eine physiologische Erscheinung beweist, dass die Formveränderung eine günstige ist. Ein Absterben und Degeneriren kann man doch nur cum grano salis mit Anpassungserscheinungen vergleichen und die dabei auftretenden Formen sind ein sichtbares Zeichen, dass die Anpassung an die geänderten Verhältnisse nicht gelingt, sie sind ein Zeichen des Absterbens, aber nicht, wie es die Anpassung ist, ein Zeichen gesunden Lebens unter geänderten Bedingungen.

Es würde demnach noch zu prüfen sein, ob die normalen Entwicklungsformen der Schraubenstäbchen und schraubigen Fäden sich

---

[1]) Zeitschrift für klinische Medicin, 1885, Bd. IX, S. 375.

im Sinne einer wirklichen Anpassung zu verändern vermögen. Dies geschieht zweifellos in geringem Maasse. Die Form der kommaähnlich gekrümmten Schraubenstäbchen der drei Arten ändern sich in ihren Dimensionen in verschiedenen Substraten etwas, so dass die Formen unter einander in manchen Medien sich ähnlicher sehen als in anderen. Finkler und Prior bemühen sich daraus auf tiefere Aehnlichkeiten zu schliessen, während Buchner und Gruber bestimmt erklären, dass dadurch die Differentialdiagnose kaum erschwert wird und die verschiedenen Kommabacillen trotz aller Aehnlichkeiten differente Organismen sind, wie es zuerst Koch und van Ermengem durch Kulturversuche sicher gestellt hatten, nachdem ich bereits vorher auf kleine morphologische Differenzen aufmerksam gemacht hatte.

Wenn wir, wie ich l. c. angeführt hatte, „jetzt schon lange nicht mehr auf dem Standpunkte stehen, aus einer noch so grossen Formähnlichkeit unter dem Mikroskope allein eine Analogie oder gar Identität herzuleiten", und wenn wir unter Beachtung aller uns zugänglichen Formmerkmale nach den von Cohn seit 1872 wiederholt dargelegten und auch von Koch öfters betonten, erweiterten und präcisirten Anschauungen in der Gesammtheit aller Formen wesentliche Differenzen bei den verschiedenen Arten der Kommabacillen treffen, so wird die angebliche Widerlegung der Anschauungen von Koch durch Gruber nur zu einer unfreiwilligen Bestätigung der Richtigkeit derselben, wenn Gruber erklärt, dass „die morphologische Charakteristik der Art nicht aus einer einzigen Wuchsform, sondern aus der Gesammtheit derselben abzuleiten" sei. Auch Buchner hat sich von der unrichtigen Auffassung der Cohn'schen Ansichten über Formconstanz noch nicht ganz frei gemacht, wenn er sagt: „Jemand, der auf das blosse mikroskopische Bild hin diese Spindel-, Monaden- und Flaschenformen gemäss der Theorie der Formconstanz für ganz verschiedene Arten erklären würde, würde sich dadurch des grössten Irrthums schuldig machen."

Eine auffälligere Anpassung an die Aussenbedingungen macht sich bei den Schraubenformen geltend. Man findet nach Buchner, Gruber, Finkler und Prior bei den Bakterien der letztgenannten Autoren, aber ebenso entschieden auch bei den Koch'schen Komma-

bacillen nach meinen Ermittelungen[1]) Differenzen, welche mit den Auffassungen von Cohn über die Constanz der Schraubenform nicht in Einklang zu bringen sind. Je nach dem Stadium der Entwicklung und der Schnelligkeit der Bildung, dem Chemismus des Nährbodens und den mechanischen Verhältnissen desselben gleicht die Schraube bisweilen scheinbar einem wellig geschlängelten Faden, bald einer flach ausgezogenen Schraube, bald einer weit, Fig. 9, C, bald einer eng gewundenen Spirale, B. Bisweilen liegen einige Schraubengänge so dicht aneinander, dass man an Ehrenberg's Spirodiscus erinnert wird. Die Fäden können bisweilen Schlingen bilden oder sich peitschenschnurartig umeinander aufrollen, F. Bald sind die Fäden flexil, C, bald starr und formbeständig, B. Im Allgemeinen sind die einzelnen Fadenfragmente mehr einheitlich, doch kommen auch Fäden vor, an denen zwei, D, und selbst drei, E, verschiedene Schraubenformen sich finden.

Dass ähnliche Verschiedenheiten bei einer bis jetzt vielfach als einheitlich und charakteristisch aufgefassten Form, wie es die Schraubenform nach Cohn sein soll, vorkommen, war bei den Schraubenbakterien nicht ermittelt und etwas Aehnliches nur für die schraubigen Fäden von Beggiatoa, Crenothrix und Cladothrix durch Zopf mitgetheilt. Die Schwierigkeiten, welche Cohn schon gefunden hatte bei der Abgrenzung seiner Gattung Vibrio gegen die Spirobakteria, die schon mitgetheilte Unmöglichkeit, zwischen Cohn's Gattungen Spirillum und Spirochaete eine durchgreifende Differenz zu finden, sind hiermit definitiv in dem Sinne erledigt, dass die Form der Schraube wesentlich durch die Aussenbedingungen veranlasst wird, sodass keine qualitativen Unterschiede zwischen den zu den Formgattungen Vibrio, Spirillum und Spirochaete gehörigen Formen der schraubigen Fäden zu ziehen sind.

Die grosse Unsicherheit in der systematischen Stellung der Kommabacillen macht sich, wenn man nur die Formen berücksichtigt, in den verschiedensten Auffassungsweisen bemerkbar. Im Sinne des Grundgedankens der Cohn'schen Terminologie hatte ich zuerst die Bezeichnung Vibrio als Gattungsbezeichnung gebraucht und zur

---

[1]) Fortschritte der Medicin, III, 1885, No. 19.

Definition dieser Gattung die beiden Formen des schraubigen Stäbchens und des schraubigen Fadens für nöthig gehalten. Ebenso verfuhren später Buchner und Gruber. Koch war wieder mehr geneigt den schraubigen Faden, also eine der auftretenden Formen, als das eigentliche Analogon des ächten Spirillum aufzufassen und in den schraubigen Stäbchen, der anderen auftretenden Form, Bruchstücke eines solchen Spirillum zu sehen, wobei diese Bruchstücke ihm wie eine Uebergangsform zwischen Bacillen und Spirillen erschienen. Später[1]) ist Koch der Meinung, „dass die Unterschiede zwischen Bacillen und Spirillen noch nicht genügend festgestellt sind" und hält es für verfrüht, „jetzt schon derartige strikte Trennungen machen zu wollen". Diese Angaben von Koch zeigen zweifellos, dass, wenn man die Gattungsbezeichnungen Bacillus und Spirillum von Cohn im Sinne von einzelnen Formen gebraucht, Schwierigkeiten entstehen, welche Cohn dadurch versucht hatte zu umgehen, dass er seine Gattungen durch mehrere Formmerkmale bestimmte. Deneke endlich stellt bei den von ihm aus Käse kultivirten Kommabacillen, seinen sogenannten Käsespirillen, den Einzelindividuen der schraubigen Stäbchen die Spirillenfäden gegenüber.

Hätte man keine anderen Anhaltspunkte, so müsste man mit dieser Erkenntniss alle Schraubenformen, soweit sie nicht in den Entwickelungskreis anderer Gattungen und Arten, wie Beggiatoa oder Cladothrix, gehören, in eine einzige Formgattung vereinigen und die Formmerkmale von Cohn würden nicht einmal genügen, um innerhalb dieser einen Gattung Formarten zu unterscheiden, sondern zur Bestimmung der einzelnen Formarten müssten mehr Wuchsformen berücksichtigt werden, als Cohn zur Bestimmung der Formgattungen Vibrio, Spirillum und Spirochaete angeführt hat. Dieses proteusartige ist allen Schraubenbakterien eigen und die Ermittelung dieser Veränderungen der Schraubenform durch die Aussenbedingungen ist eine der wesentlichsten Berichtigungen der Formgattungen von Cohn. Eine Zusammensetzung der schraubigen Stäbchen und Fäden aus isodiametrischen Gliedern, welche Gruber sich bemüht als wahrscheinlich hinzustellen, hat Gruber selbst nicht

[1]) Conferenz zur Erörterung der Cholera-Frage, II. Berlin. klin. Wochenschrift und deutsche med. Wochenschrift 1885, No. 37.

bewiesen, und ich beobachtete in dieser Hinsicht eben so grosse Differenzen wie bei den Bacillen und fand bald kürzere, bald längere Glieder.

Wenn Gruber meint, „Jedem bestimmten Komplexe von Ernährungsbedingungen entspricht eine bestimmte Wuchsform der Bakterienart", so ist dies für die Kommabacillen bestimmt nicht der Fall, wenn man die pathologischen Formen ausser Acht lässt, da in allen Medien Schraubenstäbchen und schraubige Fäden vorkommen.

Von Neelsen[1]) wurde angegeben, dass die Bakterien, welche die sogenannte blaue Milch hervorrufen, in verschiedenen Medien ganz verschiedene Entwickelungscyklen durchmachen sollen derart, dass in einzelnen Medien Gonidien, in anderen Sporen, in anderen eine Chrookokkusform sich bilden soll. Diese Angabe, nach der also jedem bestimmten Komplexe von Ernährungsbedingungen sogar ein bestimmter Formenkreis entsprechen sollte, konnte ich[2]) bei Vermeidung der Versuchsfehler von Neelsen widerlegen durch den Nachweis, dass in allen Medien dieselben Formcyklen sich bilden, dass nur die Gruppirung der Zellen zu Zoogloeen und Fäden etwas durch die Verschiedenheit der Medien beeinflusst wird und die Dimensionen der Einzelglieder sich nach den chemischen und mechanischen Verhältnissen des Nährbodens etwas ändern.

Hauser[3]) beobachtete bei drei Bakterienarten, welche stinkende Fäulniss hervorriefen, auf alkalischem festen Nährboden kuglige und elliptische Zellen, kürzere und manchmal auch längere Stäbchen und durch Zusammenbleiben der Glieder Fäden, welche gerade oder wellig gebogen waren und bisweilen sich peitschenschnurartig umeinander aufrollten; bei zwei der Arten fand er auch einige Mal schraubige Fäden, doch bildeten sich die Schrauben, Schleifen und Umschlingungen nicht constant aus.

Das vegetative Stadium war auf und in den alkalischen Medien durch die Kurzstäbchenform repräsentirt und zwar durch dieselben Formen, welche bereits Cohn für Bakterium termo, Fig. 1 A, an-

---

[1]) Studien über blaue Milch. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, III. Heft 2, 1880, S. 187.

[2]) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, II, 1884, S. 364.

[3]) Ueber Fäulnissbakterien und deren Beziehungen zur Septicämie, 1885.

gegeben hat; in sauren Medien traten dieselben vegetativen Formen auf. Die vegetativen Formen wurden in ihrem Habituseindruck durch den Wechsel der Ernährungsbedingungen nicht wesentlich beeinflusst und es traten in günstigen und ungünstigen Medien nur die Formen des Bakterium termo auf, ohne dass diese vegetativen Formen sich in ihren Dimensionen wesentlich änderten oder gar ganz andere vegetative Formen sich ausbildeten. Nur ein Unterschied machte sich bemerkbar dadurch, dass in sauren Medien das Wachsthum dürftig blieb und die Kultur sich schnell erschöpfte, während in alkalischen Medien die Stäbchen zu Fäden auswuchsen. Es wurden bei diesen Bakterien durch „geeignete Modification des Nährbodens" nicht die einzelnen Formen, sondern „die Mannigfaltigkeit des Formenkreises" derart beeinflusst, dass der gesammte Formencyklus der Art nur in wenigen günstigen Medien auch ganz zur Entwicklung kam, während in ungünstigen Medien nur ein Theil der Formen sich einstellte. Diese ausfallenden Formen waren aber nicht die wichtigen vegetativen Formen, sondern die Ruheformen, welche Cohn bereits 1872 wenigstens „theils von äusseren Verhältnissen" abhängig hingestellt hatte. Dass diese Formen an sich, wo sie zur Ausbildung kamen, durch Wechsel der Aussenbedingungen in ihren Dimensionen beeinflusst wurden und sich anpassten, hat Hauser nicht ermittelt. Der einzige Schluss aus den Mittheilungen von Hauser, für den er selbst ausreichende Beobachtungen angegeben hat, ist der, dass unter ungünstigen Umständen eine Erschöpfung der Bakterienvegetation eintreten kann, ehe dieselbe den ganzen, ihr unter günstigen Umständen zugänglichen Formenkreis durchlaufen haben.

Etwas Aehnliches ermittelte auch Falkenheim[1]) für eine andere Bakteriengattung. Aus Magensaft, welcher die bekannten Packete der Magensarcine reichlich enthielt, hatte er eine Art isolirt, welche auf verschiedenen Nährgelatinen, auf Kartoffeln, in Blutserum Kokken, Doppelkokken und bisweilen zu 4 in einer Fläche angeordnete Zellen, Tetraden, biltete. In neutralem Heuinfus ent-

---

[1]) Ueber Sarcine. Arch. f. experimentelle Pathologie und Pharmakologie. 1885, Bd. 19.

wickelten sich neben diesen Formen und sie an Zahl übertreffend ausgesprochene packetförmige, eingeschnürten Waarenballen ähnliche Conglomerate von 8 Zellen, welche nicht flächenartig, sondern wie die ächte Sarcine nach den drei Dimensionen des Raumes angeordnet waren. Die Grösse der Zellen schwankte etwas nach den Ernährungsverhältnissen. In diesem Falle trat also das Höhenstadium der Formen nicht in allen Medien, sondern nur in bestimmten Medien ein.

In allen bisher betrachteten Fällen ging die Anpassung der Formen in keinem einzigen Falle so weit, dass die einzelnen Formen als schlechthin veränderlich hätten bezeichnet werden können, sondern die Veränderungen der Formen erwiesen sich wesentlich nur als Veränderungen der Dimensionen in Folge günstiger oder ungünstiger Ernährungsverhältnisse. Die Zugehörigkeit der Formen zu bestimmten Gattungen oder Formarten war durch die Eigenthümlichkeiten der Formen immer möglich. Der geringere oder grössere Formenkreis der einzelnen Arten brachte für die physiologische Variationsbreite der einzelnen Formen keine principiellen Differenzen.

Es giebt relativ einförmige Arten, deren einzelne Formen sich nicht sichtbar ändern, während bei anderen solchen Arten die einzelnen Formen bei Aenderung der Aussenverhältnisse deutlich in ihren Dimensionen und dem Verhältniss von Länge zur Breite wechseln. Ebenso giebt es unter den pleomorphen Arten solche, deren einzelne Formen sich wenig oder scheinbar garnicht anpassen, während bei anderen die einzelnen Formen sich etwas ändern bei Aenderung der Aussenbedingungen. Diese wirkliche Anpassung der Form an das Substrat ist keine willkürliche, sondern ist für jede Art specifisch und beweist damit, dass die Formdifferenzen der Arten wahrscheinlich primäre Artunterschiede darstellen. Die Constanz, mit der solche kleine Formabweichungen eintreten können, giebt zur Differentialdiagnose neue Anhaltspunkte bei solchen Arten, deren Formen auf einzelnen Medien bis zur Verwechslung ähnlich sein können.

Die relative Einförmigkeit oder der bis jetzt nicht nachgewiesene Monomorphismus beweist an sich nicht, dass diese Formen deshalb ganz besonders constant und unveränderlich sein müssen, wenn sich die Aussenbedingungen ändern. Ebensowenig beweist auch der ent-

schiedenste Polymorphismus an sich, dass die einzelnen Formen der pleomorphen Arten wegen des Pleomorphismus besonders variabel sein müssen. Der extremste Polymorphismus hat an sich mit Variabilität der einzelnen Formen ebensowenig zu thun, wie etwa der Monomorphismus mit absoluter Formconstanz.

Wenn auch die einzelnen Formen sich bald mehr bald weniger mit den Aussenbedingungen ändern können und wenn es auch möglich ist, dass nicht in jedem Medium der ganze Entwicklungskreis der Art zur Erscheinung kommt, so tritt doch unter denselben Aussenverhältnissen immer ein ziemlich scharf bestimmter, bald enger, bald weiter Formenkreis auf. Unter den Formen dieses Entwicklungscyklus kehrt, gleichgültig welche Veränderungen die Form bei ihrer Entwicklung durchmacht, die vegetative Form so regelmässig und typisch wieder, dass sie zur Artbestimmung nach wie vor die Wichtigkeit hat, welche ihr Cohn bereits 1872 unter der Gesammtheit der Formen zuwies. In diesem engbegrenzten Sinne ist die Form der Einzelzellen genügend constant, um bei der Artbestimmung und der Gruppirung der Gattungen mit verwerthet zu werden.

Aber sowohl die Constanz der Formen unter gleichen Aussenverhältnissen als die Abweichungen unter geänderten Bedingungen, d. h. die Gesammtheit aller Formen und Formeigenthümlichkeiten gestattet an sich keine naturhistorischen Arten, sondern nur Formarten abzugrenzen und auf diese Weise eine Summe specifischer Merkmale zusammenzufassen.

VII.

Welchen Einfluss haben Veränderungen der Funktion auf die Form? Arten, Varietäten und Ernährungsmodificationen.

Während bei den bisher betrachteten Fällen die Constanz oder Variabilität der Formen unter Verhältnissen vorhanden war, bei denen die Function keine wesentliche Alteration erfuhr, giebt es auch andere Fälle, bei denen das wesentlichste Merkmal eine zufällige oder absichtliche Aenderung der Function ist. Diese Aenderung kann so weit gehen, dass die verursachenden Bakterien sich functionell sehr scharf von der ursprünglichen Art unterscheiden.

Sind nun die so entstandenen Modificationen einer Bakterienart ohne jede Aenderung der Form entstanden, sodass sie etwa dem entsprechen, was Cohn physiologische Arten nannte? Sind die physiologisch anders wirkenden Bakterien morphologisch ebenso wie die Art, aus der sie hervorgegangen sind? Sind die Formen einer solchen physiologischen Modification starr oder passen sie sich der geänderten Function in demselben oder einem höheren Grade an, wie bei den schon in Betracht gezogenen Aenderungen der Ernährung, gehören die Formen einer Ernährungsmodification, oder, nach dem üblichen Ausdrucke, einer Rasse der ursprünglichen Art an? Oder geht mit der Aenderung der Function die Anpassung der Form so weit, dass die Endglieder wie differente Formarten erscheinen, so dass eine wirkliche Umzüchtung der Form, ein Transformismus vorliegt?

Zuerst hatte wohl Pasteur[1]) das Unwirksamwerden von Kulturen der Bakterien der sogenannten Hühnercholera im Sinne einer functionellen Aenderung bei Gleichbleiben der Formmerkmale erklärt. Die ursprünglich sehr virulenten Kulturen waren nach einiger Zeit, ohne dass besondere Eingriffe erfolgten, weniger wirksam und schliesslich unwirksam geworden. Ein Eingehen auf die von Pasteur hiermit in Zusammenhang gebrachte

[1]) Comptes rendus 1880, T. 90, S. 234, 952 und 1030, T. 92, 1881, S. 426.

Frage nach der Schutzimpfung, welche solche abgeschwächte Kulturen gegen die virulenten Organismen gewähren, muss ich mir hier selbstverständlich versagen. Während Pasteur ganz sicher zu sein schien, dass seine Kulturen zweifellose Reinkulturen waren, dass also die Aenderung der Funktion auch nur die eine virulente Art betroffen haben könnte, war Löffler[1]) geneigt anzunehmen, dass es sich nur scheinbar um die Abnahme der Virulenz einer bestimmten Art gehandelt habe, und dass wahrscheinlich die virulente Art durch eine nicht virulente überwuchert worden war. Kitt[2]) machte die Annahme von Löffler für diesen Fall wahrscheinlich, da bei seinen Versuchen die Kulturen dieser Organismen, wenn sie wirklich rein waren, erheblich länger vollständig virulent blieben.

Dass Aenderungen der Funktion vorgetäuscht werden können, hatte Gaffky[3]) beim m. prodigiosus experimentell gegen Wernich festgestellt, welcher letztere bald besseres, bald schlechteres Wachsthum dieser Art als Steigerung oder Abschwächung der Infectionskraft aufgefasst hatte, während Gaffky volle Wirkungsfähigkeit der Kulturen fand, wenn dieselben rein waren, während mangelhafte Entwicklung und Wirkung bei Verunreinigung mit anderen Bakterien sich einstellte. Auch bei den Bakterien der Kaninchen-Septikaemie fand Gaffky ähnliches, sodass er l. c. S. 126 zum Schlusse kommt: „Hier wie dort bedeutet das „Degeneriren der Ansteckungsfähigkeit“ Ueberwucherung durch andere lebensfähige Organismen; hier wie dort ist die höchste Steigerung der Virulenz identisch mit der Reinkultur.“

Fast gleichzeitig und unabhängig von einander ermittelten Pasteur[4]) und Buchner[5]), dass ihre Milzbrandkulturen unwirksam wurden, wenn sie bestimmten Kulturbedingungen unterworfen

---

1) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, II, 1881, S. 137

2) Jahresbericht d. K. Central-Thierarznei-Schule in München pro 1883 bis 1884; 1885, S. 84.

3) Mittheilungen, I, 1881, S. 122.

4) Comptes rendus, T. 92, 1881, S. 209, 266, 429.

5) Ueber die experimentelle Erzeugung des Milzbrandcontagiums aus den Heupilzen. Neu abgedruckt in Nägeli's Untersuchungen über niedere Pilze, 1882, S. 140.

wurden. In der Methode der Kulturen liegt wohl ausschliesslich der Grund, dass beide Beobachter dieselbe Thatsache morphologisch in so verschiedener Weise deuteten. Pasteur erklärte vom ersten Momente an bestimmt, dass es sich in seinen Versuchen nur um Abnahme der Virulenz bei Gleichbleiben der Formmerkmale der Milzbrandbacillen handele.

Buchner fand zuerst bei anderer Versuchsanordnung dasselbe wie Pasteur, „eine unzweifelhafte Abnahme der infectiösen Wirksamkeit“ ohne Aenderung in der morphologischen Beschaffenheit, in der Sporenbildung, in der Wachsthumsart in verschiedenen Nährlösungen und in den chemischen Eigenschaften. Aber hier machte Buchner nicht halt. Als er die Kulturen weiter fortsetzte vollzogen sich gradatim morphologische Aenderungen, und schliesslich erhielt Buchner eine Form, welche sich mikroskopisch und makroskopisch in nichts von den Kulturen des Bacillus subtilis unterschied. Auch umgekehrt will Buchner den Bacillus subtillis in den Milzbrandbacillus umgewandelt haben. Buchner will also gefunden haben, dass sich die Milzbrandbacillen unter Auftreten von Uebergangsformen in Heubacillen und vice versa verwandelten. Buchner stellte damit der Abschwächung der Function von Pasteur den Transformismus gegenüber. So mussten die Angaben von Allen verstanden werden, so sind sie z. B. noch vor Kurzem von Dallinger[3]) verstanden worden.

Die Möglichkeit zwei differente Bakterien, wie es Milzbrand- und Heubacillen sind, in einander umzuwandeln setzte voraus, dass dieselben keine differente Arten, sondern nur Modificationen einer Art sind. Die von Koch wiederholt betonten morphologischen Differenzen der beiden Bakterien mussten zunächst als unbedeutend und inconstant hingestellt werden. Buchner kannte morphologische und biologische Differenzen recht wohl, aber er versuchte dieselben einfach als Anpassungserscheinungen zu deuten. Dass dieser Versuch, soweit die Formen allein in Frage kommen, höchst mangelhaft motivirt war, habe ich schon früher, S. 46, gezeigt.

[3]) Journal of the Royal Microscopical Society, 1885, Ser. II, Vol. V, S. 181.

Buchner kannte einige Differenzen in der Resistenz der Sporen beider Bacillen gegen Hitze, aber er hielt doch die Sporenbildung beider für identisch und damit die Frage der Zugehörigkeit beider Bakterien zu einer Art entschieden. Umgekehrt überträgt Brefeld[1]) seine Ermittelungen über die Bildung und Auskeimung der Sporen bei Bacillus subtilis „ohne Weiteres" auf die Milzbrandbacillen, weil durch Buchner's Experimente die Uebergangsfähigkeit der einen Form in die andere erwiesen sei. Indem Brefeld so die nur direct lösbare Aufgabe der Entwickelungsgeschichte des Bacillus anthracis umging und durch die Schlussfolgerungen aus Buchner's Experimenten als gelöst darstellte, wurde das vollständige Ignoriren der Entwickelungsgeschichte beider Arten nachträglich sanctionirt und Buchner's Erklärung, dass die Formmerkmale beider Bakterien schlechthin veränderliche sind, als wissenschaftlich berechtigt erklärt.

Koch[2]) hielt demgegenüber daran fest, dass die Formen der beiden Bakterien nicht schlechthin veränderlich sind, sondern die morphologischen Differenzen auf primäre Artunterschiede hinweisen. Auch die Differenz in der Resistenz der Sporen deutete darauf hin, ebenso ist das Optimum und Minimum der Temperatur für Bildung und Auskeimung der Sporen bei Milzbrandbacillen nach Koch ein entschieden anderes als nach Brefeld bei den Heubacillen. In dieser Weise kam Koch zu dem Schlusse, dass in Buchner's Versuchen nicht die Milzbrandbacillen in die nahestehenden Heubacillen verwandelt worden seien, sondern dass die Milzbrandbacillen durch die artlich verschiedenen Heubacillen, welche sich in die Kulturen eingeschlichen hatten. verdrängt worden waren. Die Umzüchtung der Heubacillen in die Milzbrandbacillen, welche übrigens seit Koch's Kritik nicht mehr gelungen zu sein scheint, fasste Koch auf als ein Verdrängen der Heubacillen durch die artlich differenten Bacillen des malignen Oedems.

Bei dieser Sachlage war nicht genügend sicher zu erkennen, ob bei Buchner's Versuchen die Abnahme der Virulenz durch Ab-

---

[1]) Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, II, 1881, S. 48.

[2]) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, I, 1881, S. 68.

schwächung oder durch Ueberwuchern durch andere Bakterien erfolgte oder ob es sich dabei, wie ich andeutete[1]), „um eine Combination von Abschwächung der Milzbrandbacillen mit gleichzeitigem Auftreten von Heubacillen" handelte. Es konnten nach Koch's Kritik sogar successive Verwechslungen von drei ächten Arten stattgefunden haben, welche Buchner nur als drei Ernährungsmodificationen oder differente Anpassungsformen einer einzigen Art aufgefasst hatte, und da Buchner die Umzüchtung der Heubacillen in Milzbrandbacillen später nicht mehr berücksichtigte, blieben mindestens noch zwei Arten resp. zwei Modificationen einer Art übrig.

Bei seinem Versuche, die Priorität der Beobachtung der Abnahme der Virulenz der Milzbrandbacillen Pasteur gegenüber für sich zu reclamiren, erklärte Buchner[2]) seine Umzüchtung der Milzbrandbacillen in die Heubacillen als eine „Umänderung der Milzbrandbakterien in unschädliche, morphologisch gleichgeartete Bakterien".

Später stellte Prazmowski[3]) fest, dass die Milzbrandbacillen und Heubacillen ganz differente Arten sind, dass die schon angeführten Differenzen der Sporen der beiden Bakterien noch verschärft werden durch eine differente Auskeimung der Sporen. Hiermit ist definitiv widerlegt, dass sich Milzbrandbacillen in Heubacillen umwandeln lassen und die ganze Frage definitiv in dem Sinne von Pasteur entschieden, dass es sich um eine Abschwächung der Milzbrandbacillen handelt. Zugleich ist aber gezeigt, dass mindestens ein Theil der von Koch immer betonten Formverschiedenheiten der beiden Bakterien auf primäre, artliche Formdifferenzen hindeutet. Die „nicht pathogene Form der Milzbrandbakterien", welche sich aus den virulenten Kulturen entwickelte, zeigte nach Prazmowski „dieselben morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Charaktere, wie die ächten, giftigen Milzbrandbakterien. Ihre Stäbchen sind unter den gleichen Bedingungen von derselben

1) Forschritte der Medicin, 1883, S. 410.
2) Virchow's Archiv, 1883, Bd. 91, S. 410.
3) Biologisches Centralblatt, 1884, Nr. 13.

Form und Grösse, zeigen sich durch die gleichen schwerfälligen Eigenbewegungen aus und bilden Sporen von derselben anatomischen Beschaffenheit, die in gleicher Weise auskeimen". Dass die im Allgemeinen unbeweglich erscheinenden Milzbrandbacillen bisweilen eine geringe Eigenbewegung zeigen können, hatten früher schon Frisch und Ewart gefunden, doch ist die Differenz dieser Bewegung gegenüber der Bewegung der Heubacillen beträchtlich.

Hiermit ist aber die Frage noch nicht erledigt, ob denn gar keine Aenderungen der Form bei der Abschwächung stattfinden. Zunächst finden die kleinen Aenderungen der Dimension bei Aenderung des Nährbodens statt, wie auch bei den virulenten Bakterien, S. 48. Hiervon abgesehen, finden Koch, Gaffky und Löffler[1]) zwischen den virulenten und wirkungslosen Bakterien keine Unterschiede. „Die Form der Bacillen hat sich in keiner Weise verändert. Sie sind ebenso unbeweglich wie die virulenten Bacillen. Ihre Enden erscheinen scharf abgeschnitten. Sie bilden lange Fäden und in diesen ovale, glänzende Sporen, ganz wie die virulenten Bacillen."

Eine Formabweichung bei den zwischen 42 und 43° abgeschwächten Kulturen haben aber Koch, Gaffky und Löffler beobachtet. „Während bei dem virulenten Milzbrande die Capillaren fast ausnahmslos von kurzen Stäbchen erfüllt gefunden werden, fanden sich bei dem Mäuse-Milzbrande die Capillargebiete, namentlich der Lunge, von langen Fäden erfüllt, deren Continuität sich häufig aus den Capillaren bis in grössere mikroskopische Gefässe hinein verfolgen liess."

Bei den ohne directe Eingriffe degenerirten Kulturen, deren morphologische Identität mit den virulenten Bacillen durch die Entwicklungsgeschichte einwandsfrei erwiesen wurde, ermittelte Prazmowski gleichfalls einige Formabweichungen. „Von den giftigen Milzbrandbakterien unterscheiden sie sich nur durch den Mangel der virulenten Eigenschaften und dadurch, dass sie die Fähigkeit der Eigenbewegung in viel höherem Grade besitzen, wesshalb sie bei reichlicher Vermehrung die Nährlösungen trüben und später an deren Oberfläche dickliche, schmutzige, weisse Decken von schleimiger

[1]) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheits-Amte, II, 1884, S. 150.

Beschaffenheit bilden." Besonders bei Kulturen mit dem Schüttelapparate hatte Buchner ähnliche Beobachtungen gemacht und dieselben als Zeichen der Bildung einer Uebergangsform zu den Heubacillen gedeutet. Kurth [1]) hatte als Lufteinsaat einmal eine Art erhalten, welche dieselben Formen der Wolken in Nährlösungen zeigte, wie die abgeschwächten Kulturen von Prazmowski oder die Uebergangsform von Buchner.

Sicher ist demnach, dass die wichtigsten Formmerkmale durch die Abschwächung nicht alterirt werden, sicher ist aber auch, dass kleine Abweichungen der Form eintreten können, welche aber kaum weiter gehen als die Anpassungen der einzelnen Formen an geänderte Ernährung. Diese Anpassung zeigt sich darin, dass eine Tendenz zur Bildung von Ruheformen eintritt, indem sich reichliche Fadenformen bilden oder indem sich vielleicht auch bei anderen Versuchsanordnungen eine sonst nicht vorhandene Neigung zur Deckenbildung einstellt.

Ergeben sich aus derartigen Beobachtungen neue Gesichtspunkte für die Beurtheilung der Artfrage bei den Bakterien?

Während man nach Cohn's Auffassung die virulenten und die unwirksamen Milzbrandbakterien als physiologische Arten auffassen müsste, würde man nach Nägeli umgekehrt Milzbrandbakterien und Heubakterien als einfache Ernährungsmodificationen einer Art betrachten können. Nach Cohn sind alle Differenzen zunächst als artliche aufzufassen und erst durch die Fortschritte der Wissenschaft ist zu entscheiden, ob specifische Differenzen auch den Werth von Species-Merkmalen besitzen. Nach Nägeli sind die specifischen Differenzen in der Regel nur Merkmale von Ernährungsmodificationen aber nicht ohne Weiteres oder nur sehr selten von naturhistorischen Species. Lassen sich nun aus unseren bisherigen Erfahrungen Anhaltspunkte gewinnen, dass und welche der specifischen Merkmale den Werth constanter Species-Merkmale besitzen und welche nur specifisch im Sinne der einfachen Ernährungsmodification sind?

Dass Nägeli viel zu weit ging und sich das Eintreten von

[1]) Botanische Zeitung 1883, S. 431.

Ernährungsmodificationen zu leicht vorstellte, habe ich bereits früher gezeigt. Nägeli [1]) hatte z. Z. die Beobachtung, dass gekochte Milch bisweilen nicht sauer, sondern bitter wird und später eine ammoniakalische Zersetzung eingeht, als eine derartige Beeinflussung der Säurebakterien durch Hitze aufgefasst. Dies war für die Nägeli'sche Schule bis zum Aufkommen der Unzüchtungen der Milzbrandbakterien der einzige, scheinbar einwandsfreie Beweis für die experimentelle „Umwandlung der bestimmten Hefennatur eines Pilzes in eine andere." Und doch war, wie ich nachweisen konnte [2]), nichts Derartiges vorgekommen, sondern die resistenteren Buttersäurebakterien hatten die Hitze überstanden und bewirkten nur die ihnen specifische Einwirkung auf die Albuminate der Milch. Keine Bakterienart hatte dabei Form und Wirkung geändert.

Auf der anderen Seite entspricht aber auch die Ansicht von Cohn den Thatsachen nur mit wichtigen Einschränkungen, besonders weil die von Cohn zu Grunde gelegten Ansichten über den Parasitismus der Bakterien zu einseitig sind. Die saprophytischen Bakterien sind nicht durch eine scharfe Linie von den parasitischen geschieden und unter den saprophytischen sind, wie ich besonders Pasteur gegenüber geltend gemacht habe, die Fermentbakterien nicht durch ein bestimmtes physiologisches Kriterium, die Fähigkeit der Anaerobiose, scharf von den übrigen Gruppen getrennt. Es kommen zwischen den Bakterien der Oxydationsgährungen, gewöhnlich aerobiotischen und anaerobiotischen Bakterien, alle möglichen Uebergänge vor und ebenso sind die zymogenen mit den chromogenen und pathogenen durch vermittelnde Glieder verbunden. Es giebt endlich Bakterienarten, welche mehrere dieser Eigenschaften in sich vereinigen können, so dass man nicht nur mit Formcyklen, sondern auch mit Wirkungscyklen zu rechnen hat. [3])

Nägeli hatte „von jeher bei der nämlichen Zersetzung oft einen ziemlich weiten Formenkreis der anwesenden Spaltpilze oder

---

1) Die niederen Pilze 1877, S. 21.

2) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, II, 1884, S. 327 und 353.

3) cfr. meine Untersuchungen: Deutsche med. Wochenschrift 1884, No. 48 bis 50; Methoden der Bakterienforschung 3. Aufl., 1886, S. 183, 206 und 221.

mit anderen Worten ein Gemenge von mehreren Formen, die man gewöhnlich specifisch oder selbst generisch trennt, beobachtet, andererseits bei ganz verschiedenen Zersetzungen dem Anschein nach durchaus die gleichen Spaltpilze gefunden." Diese Beobachtungen glaube ich damit richtig gestellt zu haben, dass ich zwischen den Extremen der von Pasteur und Cohn und der gegentheiligen von Duval und Nägeli vertretenen Ansicht auf Grund der Thatsachen eine vermittelnde Stellung eingenommen habe, durch den inzwischen durch alle weiteren Beobachtungen bestätigten Nachweis, dass es sich nicht um die „nämlichen Zersetzungen" resp. um die „gleichen Spaltpilze" gehandelt haben kann. In allen derartigen Fällen handelte es sich nur um ähnliche Zersetzungen, insofern besondere Hauptproducte wie Milchsäure, Buttersäure, Ammoniak von verschiedenen Bakterien gebildet werden, und um ähnliche Spaltpilze, insofern in der Entwicklung verschiedener Arten ähnliche Formen auftreten können. Jeder specifischen Zersetzung und Krankheit enspricht zwar keine „specifische Pilzform", wohl aber ein „specifischer Pilz" resp. eine specifische Bakterie, oder überhaupt ein specifischer Mikroorganismus.

Die Formen einer Art, welche mehrere Wirkungen ausüben kann, und z. B. zymogen, chromogen und pathogen ist, ändern sich nach den Ernährungsverhältnissen nicht mehr als es bereits früher gezeigt ist. Die genaue Kentniss aller dieser Eigenschaften kann dadurch sehr werthvoll zur Differentialdiagnose werden und die Möglichkeit eines derartigen Geschehens warnt uns davor, das Auftreten neuer Eigenschaften ohne Weiteres als Zeichen einer beginnenden Anpassung, als Entstehen einer neuen Ernährungsmodification aufzufassen. In der Mehrzahl der Fälle wird es sich dabei wahrscheinlich nur um das Manifestwerden von Eigenschaften handeln, welche wegen der besonderen früheren Versuchsanordnungen sich bis dahin der Beobachtung entzogen hatten, also nicht um durch Anpassung neu erworbene, sondern um noch nicht bekannte Eigenschaften.

Manche der physiologischen Wirkungen sind nach unseren Erfahrungen schlechthin constant und werden durch keinen Eingriff alterirt. Diese constanten physiologischen Eigenschaften und die constanten morphologischen Merkmale geben zusammen einen An-

halt, welche Bakterien wir als die ursprünglichen Arten und welche wir nur als Ernährungsmodificationen dieser Arten anzusehen haben. Im Allgemeinen erweisen sich gerade die am meisten imponirenden Eigenschaften, specifische Fermentthätigkeit und Parasitismus, als die am leichtesten zu beeinflussenden, so dass im Allgemeinen wohl der Schluss gerechtfertigt ist, die specifische Fermentthätigkeit und den Parasitismus als eine erworbene Eigenschaft, eine Anpassung, eine Ernährungsmodification anzusehen. In diesem Sinne ist die Abnahme der Virulenz eine atavistische Erscheinung, ein Rückschlag auf den Ausgang des einfachen Saprophytismus.

In vielen Fällen konnten aber die specifischen zymogenen und pathogenen Eigenschaften nicht beeinflusst werden und der Grad des Parasitismus, facultativer Parasitismus, facultativer Saprophytismus oder obligater Parasitismus giebt nach dieser Richtung keine definitive Entscheidung. In solchen Fällen kann das Nichtbeeinflussen der Wirkung darin seinen Grund haben, dass die Versuchsanordnung noch Mängel hatte, oder dass die Anpassung bereits die Constanz der ächten Art oder Varietät angenommen hatte oder dass es sich ohne eine besondere Anpassung um Eigenthümlichkeiten des Protoplasma und damit bei der Wirkung um moleculare Bewegungen handelt, auf deren Verständniss wir noch verzichten müssen.

Eine weitere Möglichkeit der Beurtheilung liegt darin, dass die einfach saprophytischen Arten und die morphologisch gleichen chromogenen, zymogenen oder pathogenen Arten wirklich physiologische Arten oder noch richtiger constante Varietäten einer Art sind, welche als solche ausgestorben ist.

Mit dem einseitigen Herausgreifen einer dieser Möglichkeiten ist es bei dem gegenwärtigen Zustande unseres Wissens nicht gethan. Nur die Berücksichtigung aller dieser Annahmen und das sorgfältigste Abwägen pro und contra wird uns leidlich vor groben Irrthümern schützen können.

Den Buttersäurebakterien kann man die Fähigkeit, aus bestimmten Saccharaten Buttersäure abzuspalten, experimentell nehmen; sie vermögen aber dann noch nach wie vor Albumniate zu lösen. Welche Schlüsse lassen sich aus diesem Experimente ziehen? Sind

die besonders anaerobiotischen Buttersäurebakterien wegen der Abnahme dieser specifischen Wirkung nur eine einfache Ernährungsmodification einer peptonisirenden aerobiotischen Art? Die Frage scheint sicher in diesem Sinne zu beantworten und doch ist die Sache nicht so einfach, da man eine derartige aerobiotische Art spontan bis jetzt nicht kennt, sondern spontan diese Bakterien immer als Buttersäurebakterien trifft, unter natürlichen Verhältnissen also gerade eine Constanz der Eigenschaften beobachtet, welche im Experimente leicht zu beeinflussen sind.

Auf Kartoffelscheiben sehen die virulenten Rotzbacillen ebenso aus, wie die durch einfaches Sichselbstüberlassen der Kulturen degenerirten, nicht mehr virulenten, morphologisch durchaus gleichen Bakterien. Wenn man die Herkunft nicht kennte, müsste man sie für einfache Pigmentbakterien halten. Sind demnach die Rotzbakterien nur eine Ernährungsmodification einer harmlosen Pigmentbakterie? Können sie vielleicht spontan jeder Zeit aus solchen entstehen? Eine identische Art von nichtvirulenten Pigmentbakterien hat man bis jetzt noch nie spontan gefunden oder gar zur Virulenz angezüchtet, sondern man kennt unter natürlichen Verhältnissen bis jetzt nur die malignen Rotzbacillen. Die künstlichen Kulturen zeigen also Dinge, welche wir spontan nicht beobachten oder beobachtet haben. Sind die virulenten Rotzbacillen eine Art, sind die nichtvirulenten die eigentliche Art, sind beide Varietäten einer ausgestorbenen Art, sind die virulenten eine Ernährungsmodification einer harmlosen, chromogenen Art, sind die nichtvirulenten eine einfache Degenerationsform? Auch hier lässt sich nur sehr allgemein die Annahme aufstellen, dass vielleicht die virulente Art einmal aus einer nichtvirulenten chromogenen Art entstanden ist, ohne dass man aber schon jetzt im Stande wäre, endgültig die Beziehungen der virulenten zu den nichtvirulenten festzustellen.

Aehnlich liegen die Verhältnisse bei den Milzbrandbacillen. Pasteur glaubt, dass man die bei 42 bis 43° abgeschwächten Bacillen durch successive Kulturen regelmässig wieder in die virulenten überführen kann. Koch, Gaffky und Löffler ermittelten dagegen, dass man die verschiedenen Grade der Abschwächung fixiren kann, indem man die Bakterien in Gelatine weiter züchtet.

Die Sporen derartig abgeschwächter Bakterien conserviren den jeweils erreichten Grad auf lange Zeit. Bisweilen trat allerdings in derartigen Kulturen auch ohne weitere Eingriffe eine weitere Abnahme oder auch eine Zunahme der Virulenz ein. Die Fixirung wurde in dem Maase unsicherer, als die zur Abschwächung erforderliche Zeit bei 42 bis 43° kürzer war, und sie wurde in dem Maasse mehr und mehr erschwert oder unmöglich, als die Temperaturen sich von 43° entfernten. Lag, wie in den Versuchen von Chauveau und Toussaint, die Temperatur zwischen 47 und 55°, so wurde die zur Abschwächung erforderliche Zeit immer kürzer, aber die abgeschwächten Kulturen erlangten auch ihre Virulenz fast in demselben Maasse schneller wieder. Als dann Chauveau[1]) mit der Temperatur unter 42° herabging und zur Abschwächung Temperaturen von 38 bis 39° unter gleichzeitigem Drucke von 8 Atmosphären anwandte, fand er, dass ein Stadium der Abschwächung, welches keine Schafe, sondern nur Meerschweinchen tödtete, eine auffallende Constanz unter den verschiedensten Kulturbedingungen zeigte. Sind demnach die virulenten Milzbrandbacillen eine ächte Art oder nur eine Ernährungsmodification einer gewöhnlichen saprophytischen Art, aus der sie jederzeit wieder entstehen können? Da man spontan aber immer wieder den virulenten Milzbrandbacillus findet, ist auch die Frage berechtigt, ob nicht gerade umgekehrt der virulente Bacillus als Art und die abgeschwächten Generationen einfach als Degenerationsformen anzusprechen sind? Oder sind die virulenten und die ganz abgeschwächten Bakterien Varietäten oder Modificationen einer als solchen ausgestorbenen, gewöhnlichen saprophytischen Art? Welchen Werth haben die verschiedenen Grade der Abschwächung? Können sie je nach der Methode ganz verschiedene Dignität haben? Kommt den von Koch, Gaffky und Löffler fixirten Graden schon die Constanz einer wirklichen Ernährungsmodification zu? Ist der von Chauveau fixirte Grad von so entschieden grösserer Dignität, dass man ihn gar als Varietät ansprechen kann?

Der Pathologe wird nach alledem mehr geneigt sein, die virulenten Milzbrandbacillen als Art anzusprechen, und den verschiedenen

---

[1]) Sur la nature des transformations que subit le virus du sang de rate attenué par culture dans l'oxygène comprimé. Comptes rendus 1885, Bd. 101, S. 142.

Graden der Abschwächung nur den Werth von Ernährungsmodificationen zuzugestehen, weil man spontan nur die virulente Form kennt und zum Erreichen der Abweichungen in der Regel Eingriffe nöthig sind, welche der Natur nicht zu Gebote stehen. Der Naturphilosoph wieder wird aus dem Umstande, dass überhaupt eine experimentelle Beeinflussung der Funktion möglich ist, den Schluss ziehen, dass dann diese Funktion eben noch nicht die Constanz eines Artmerkmals besitzt, dass also der maligne Milzbrandbacillus nur eine Ernährungsmodification einer an sich nicht malignen Art ist.

Der Pathologe kann sich für seine Auffassung, dass die pathogenen Bakterien, wie sie uns spontan begegnen, als ächte Arten zu betrachten sind, auf einen Umstand berufen, auf den ich schon früher die Aufmerksamkeit gelenkt habe [1]), „dass unter natürlichen Verhältnissen auf Eingriffe, welche die Existens des Individuums bedrohen, auch diese Organismen in der Regel nicht mit Varietät, sondern durch Bildung von Dauerformen im Gegentheil mit Erhaltung der Art, mit Constanz der Merkmale reagiren." Auf diese Weise besitzt die Natur ein sehr zuverlässiges Mittel, welches einen Rückschlag, ein Degeneriren verhütet und Eigenschaften sicher conservirt, welche ohne dieses Hülfsmittel zunächst nicht constant sein würden.

Für diese Auffassung tritt unter den Botanikern neuerdings de Bary [2]) sehr entschieden ein. „Gerade in dem Bereich der parasitischen Bakterien haben, nach seiner Ansicht, die Untersuchungen mehr und mehr distincte Species festgestellt und gezeigt, dass bei jeder genauer bekannten parasitären Krankheit auch eine bestimmte Bakterienform als Krankheitserreger auftritt, an deren specifischer Qualität so wenig oder so viel gezweifelt werden kann, wie an jener eines grösseren Pilzes oder Wurms. Die Behauptung, dass es distincte, parasitische Bakterienspecies giebt und dass im Allgemeinen jede durch Bakterien verursachte specifische Krankheit auch von einer besonderen Bakterienspecies verursacht wird, ist nicht einfach bequem, wie Nägeli meint, sondern die einzige, welche mit den dermalen bekannten Thatsachen in Uebereinstimmung steht."

[1]) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, II, 1884, S. 369.
[2]) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze 1884, S. 527.

VIII.

Die Bedeutung der Zoogloea zur Abgrenzung von Gattungen und Arten.

In den bisher betrachteten Fällen erwiesen sich die Formabweichungen der vegetativen Einzelzellen nicht als so gross, dass man diese Form als schlechthin veränderlich bezeichnen kann. Im Gegentheil tritt diese Form so typisch auf, dass ihre Formeigenthümlichkeiten auf primäre Artunterschiede hinweisen und bei richtiger Beurtheilung des Gesammtverhaltens diese Form einen hohen Werth zur Artbestimmung besitzt. Dagegen waren schon Andeutungen vorhanden, dass der Modus der Verbindung dieser Einzelzellen zu Zoogloea oder Fäden bei Aenderung der Aussenbedingungen leichter Schwankungen unterworfen ist.

Cohn hatte die Bildung der Zoogloea für so characteristisch gehalten, dass er seine Tribus Sphärobakteria und Microbakteria dadurch von den Tribus Desmobakteria und Spirobakteria geschieden hielt, dass nur die ersteren Schleimfamilien bilden sollten. Die letztgenannten Tribus bilden demgegenüber Fäden oder kommen „frei zerstreut oder in Schwärmen“ vor. „Der Bakterienschwarm unterscheidet sich, nach Cohn[1]), von der Zoogloea dadurch, dass bei letzterer die Zellen unbeweglich durch Intercellularsubstanz verknüpft sind; deshalb bildet die Zoogloeagallerte im Wasser einen scharf abgegrenzten, meist sphärischen Contour, der um so deutlicher hervortritt, weil die Bakterienzellen scheinbar am Rande der Gallert dichter gelagert sind, als in der Mitte. Die Schwärme dagegen bestehen bloss aus freien, beweglichen, aber oft so dicht an einander gedrängten Zellen, dass dieselben sich fast berühren, und daher eine schleimige Masse bilden; in bewegtem Wasser vertheilen sich jedoch die einzelnen Zellen ohne Weiteres, da sie durch keine Zwischensubstanz verbunden sind.“

Später hielt, wie Seite 34 angegeben ist, Cohn diese Differenzen für so wichtig, dass er nicht nur die Bakterien, sondern

1) Beiträge zur Biologie der Pflanzen I., Heft 2, 1872, S. 142.

sämmtliche Spaltpflanzen in zwei grosse Gruppen eintheilte, deren eine, Gloeogenae, besonders durch die Neigung der Zellen zur Bildung von Schleimfamilien characterisirt wurde, während die andere, Nematogenae, eine Tendenz der Zellen zur Bildung von Fäden zeigen sollte.

Bald darauf ermittelte Cohn[1]), dass das Entwicklungsstadium sehr berücksichtigt werden muss, wenn der Zoogloea ein so hoher Werth beigelegt werden soll. Die auf sterilisirtem Heuinfus sich entwickelnden „trocknen, zusammenhängenden schuppigen Häutchen" waren zwar „auf den ersten Blick" von dem „gewöhnlichen Zoogloeaschleim faulender Flüssigkeiten" sicher zu unterscheiden. Aber dieses Häutchen veränderte sich allmählich und war später ähnlich wie die echte Zoogloea von Mikrokokkus luteus oder Askokokkus. Die Decke der Bacillen hatte sich so verändert, dass sie wie eine Zoogloea von Mikrokokken aussah.

Koch entwickelte dann[2]) die allgemeine Ansicht, dass die Zoogloea als solche einen Ruhezustand darstellt und dass „die Entwicklung der Bakterien zur Zoogloea, gerade so wie die Bildung von Häutchen oder bei manchen Bacillen das Auswachsen zu langen Gliederfäden der Entwicklung von Sporen vorhergeht." Nachdem Koch verschiedene Formen von Zoogloea, verzweigte, gelappte, knollenförmige, kuglige, ringförmige, ganz gefüllte und solche mit Hohlräumen angeführt hat, giebt er an: „Die meisten werden von kugligen, ovalen oder lang ovalen Bakterien gebildet, doch giebt es auch solche, die aus kurzen Stäbchen und aus kleinen Spirillen zusammengesetzt sind." Zoogloea von Spirillen hatte übrigens bereits Perty[3]) auf Tafel XV Fig. 27 von Spirillum undula (cfr. Fig. 10 A) und in Fig. 29 von Spirillum rufum abgebildet.

Wenn Koch auch annimmt, dass jede Bakterienart nur in einer solchen Zoogloeaform ihren Ruhezustand findet, so ist er doch der Ansicht: „Die Zoogloea allein kann indessen zur Characteristik einer bestimmten Bakterienart nicht genügen." Koch stützt damit die Ansicht von Cohn, dass eine auch noch so characteristische Form

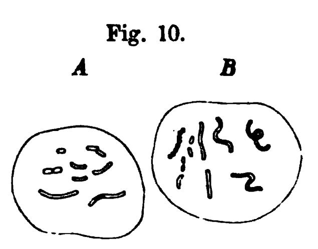
---

1) Beiträge zur Biologie der Pflanzen II., Heft 2, 1876, S. 261.
2) ibid. II., Heft 3, 1877, S. 415.
3) Zur Kenntniss kleinster Lebensformen 1852,

allein zur Artbestimmung nicht genügt, aber es ergiebt sich schon aus den damaligen Angaben von Koch, dass die Verwerthung der Zoogloea nur mit grosser Reserve zur Abgrenzung von Gruppen oder Gattungen unter den Bakterien möglich ist.

Die Abgrenzung der Zoogloea bildenden Bakterien gegen die fadenbildenden im Sinne von Cohn setzt eigentlich voraus, dass den Einzelzellen qualitative Differenzen in Bezug auf die Fähigkeit des Vergallertens innewohnen müssen. Gegen eine solche Annahme spricht sich Prazmowski[1]) sehr entschieden aus und nimmt der Zoogloeabildung einen weiteren Theil des Werthes, den ihr Cohn zugesprochen hatte. Nach Prazmowski sondern die Bakterien nicht erst Schleim ab, wenn sie zur Ruhe kommen, sondern die äusseren Schichten der Bakterienmembran vergallerten auch bei den beweglichen Formen und bei allen Bakterien, doch wird diese feine äussere Gallerthülle „im beweglichen Zustande wegen ihrer zarten und weichen Beschaffenheit durch Reibung an die umgebende Flüssigkeit abgestreift.“ Beim Eintritt der Ruhe werden diese aufgequollenen äusseren Schichten der Membran nicht mehr abgestreift, sondern sie erhalten sich und werden „durch immer neues Aufquellen der inneren Schichten der Membran verstärkt.“

Fig. 10.



A Zoogloea von Spirillum undula nach Perty. B Zoogloea von Cladothrix nach Zopf.

Bie Bildung solcher Ruhezustände kann eintreten, wenn bewegliche Bakterien in Ruhe übergehen und sich z. B. an der Oberfläche einer Flüssigkeit einfach anhäufen. Eine Verstärkung eines solchen Bakterienhäutchens kann dann erfolgen, indem einfach die Membranen vergallerten oder indem gleichzeitig ein Theil der Zellen sich durch Theilung noch vermehrt. Bei unbeweglichen Bakterien erfolgt die Bildung einer Schleimcolonie durch directe locale Vermehrung. Im letzteren Falle wird die Colonie immer einheitlich sein, während

---

1) Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten 1880, S. 44.

im ersten Falle sich bisweilen Decken von mehreren Bakterienarten bilden können.

Billroth hatte wohl zuerst Mittheilungen gemacht[1]), nach denen es möglich ist, die Ausbildung der Zoogloea durch Aenderung der Aussenbedingungen zu beeinflussen, indem er fand, dass in zuckerhaltigen Substraten die Schleimhäute der Bakterien sich stärker als in anderen Lösungen entwickelten. Prazmowski ermittelte nach dieser Richtung weiter, dass Bakterien, welche auf Dextrin- und Zuckerlösungen, auf Stärke und Kartoffeln mächtige Schleimdecken bilden, auf Infusen von gekochtem Hühnereiweiss sehr dürftige Decken entwickelten. „Der Antheil, welchen die Kohlehydrate an der Bildung der Gallerthülle der Bakterien haben, ist vielleicht der, dass sie direct das Material zur Ausbildung der Gallertmembran liefern."

Bei einzelnen Bakterienarten, welche man nach Cohn als Bacillen bezeichnen müsste, welche Prazmowski wegen ihrer Entwicklungsgeschichte unter dem Namen Clostridium von ihnen abzweigte, fand er, dass die Stäbchen beim Eintritt in die Ruhe sich so unregelmässig gruppiren, wie es nach Cohn die Sphärobakterien und Mikrobakterien allein thun sollten. Auch für die ächten Bacillen ermittelte er, dass die Fäden beim Zerfalle in kleinere Fadentheile zerbrechen, „die sich entweder parallel aneinanderlegen oder auch ohne irgend welche Regelmässigkeit neben einander gruppiren."

Zopf ermittelte[2]), dass bei Cladothrix dichotoma, Fig. 5, sowohl kuglige, als stäbchenförmige Zellen Zoogloen bilden können, dass sich Zoogloen finden, welche gerade, wellige, schraubige und selbst verzweigte Fäden umschliessen. Weiter beobachtete er, wie bereits vor ihm Perty (Fig. 10 A), dass sich in einer Zoogloea, Fig. 10 B, selbst verschiedene Formen von Einzelzellen finden können. Ferner fand er, dass die früher von Cohn als eine besondere Art aufgefasste Clathrocystis roseo-persicina, Fig. 11 B, eine Zoogloea von kugligen Einzelzellen ist, welche in die Entwicklung der Beggiatoa roseo-persicina gehört. Vor allem stellte aber Zopf fest, dass die

---

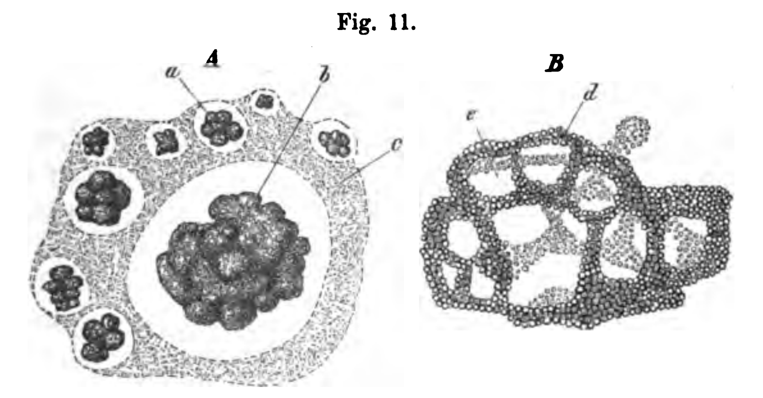
1) Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica 1874, S. 9.

2) Zur Morphologie der Spaltpflanzen 1882.

Unterschiede zwischen Zoogloea- und Faden-bildenden Spaltalgen nicht so schroff sind, wie sie Cohn hingestellt hatte.

Auch bei einzelnen Schraubenbakterien ist noch ermittelt worden, dass sie nicht nur schraubige Fäden, sondern bisweilen auch Zoogloea bilden können. Dies thun nach Gruber[1]) z. B. die Kommabacillen von Finkler-Prior und die Kommabacillen der Cholera asiatica bilden nach meinen Beobachtungen nicht nur Schwärme an der Oberfläche von Flüssigkeiten, sondern bisweilen auch starke Schleimdecken, in denen sich neben Einzelzellen reichlich schraubige Fäden finden.

Fig. 11.



A Askokokkus nach Cohn, ca. 65fache Vergrösserung.
B Clathrocystisform der Begiatoa roseopersicina nach Zopf, ca. 250fache Vergrösserung.

Aus diesen Ermittlungen ergiebt sich sicher, dass Tribus- und Gattungsabgrenzungen unter den Spaltpflanzen im Allgemeinen und den Bakterien im Besonderen auf Grund des Auftretens von Zoogloea nicht durchzuführen sind. Zwischen der unregelmässigen Gruppirung der Einzelzellen in der Zoogloea und den regelmässig angeordneten Fäden der Decken giebt es Zwischenglieder. Zwischen den frei beweglichen Bakterien und den Anfängen der feinen Decken giebt es Uebergänge; als ein solches Zwischenglied fasse ich die „Schwärme“ auf, da dieselben zwar bei Zufuhr frischen Nährmaterials sich sofort wieder vertheilen, bei Erschöpfung des Materials aber zunächst feine Häutchen bilden, welche allmählich zu ganz dicken Schleimdecken

[1]) Wiener med. Wochenschrift 1885, S. 299.

vergallerten können. Zwischen den alten Schleimdecken von Bacillen und den Zoogloen von Kokken existiren keine qualitativen Differenzen. Alle bis jetzt bekannten Formen der Bakterien können gelegentlich in Zoogloea auftreten.

Eine Differenz in der Bildung ist vielleicht nur zwischen unbeweglichen und beweglichen Bakterien zu beobachten. Die ersteren können unter Umständen sofort in die Bildung der Zoogloea eintreten, so dass diese die einzige Ruheform bildet, während bewegliche Bakterien in Flüssigkeiten in der Regel später in ein unbewegliches Stadium übergehen, in diesem zunächst die Ruheform von Fäden bilden, welche sich zu Decken vereinigen, die dann allmählich durch Vergallerten der Membranen in eine ächte Zoogloea übergehen.

In Flüssigkeiten können grössere Differenzen zwischen Zoogloea bildenden und scheinbar keine Zoogloea bildenden Arten dadurch vorgetäuscht werden, dass einzelne Bakterien in Flüssigkeiten scharf umschriebene Zoogloen bilden, während die Schleimmassen anderer in der Flüssigkeit zerfliessen und deshalb wenig formbeständig und auffallend sind. Die von Cohn hervorgehobene Beobachtung, dass am Rande der Zoogloea die Bakterien dichter gelagert sind, findet darin ihre einfache Erklärung, dass nur am Rande der Austausch mit dem Nährmaterial leicht ist, so dass dort bis zur Erschöpfung der Lösung die Vermehrung durch Theilung überwiegt, während in der Mitte, wohin nur wenig Nährmaterial durch Diffusion gelangt, die Vergallertung der Membran vorherrscht, durch welche die Zellen von einander gedrängt werden.

Thatsache ist, dass der Chemismus des Substrates die Bildung der Zoogloea beeinträchtigen oder begünstigen kann; oder mit anderen Worten es findet eine Beeinflussung der Form der Zoogloea durch die Aussenbedingungen statt.

Die systematische Verwerthung der festen Nährböden zum Studium der Bakterien hat uns in den letzten Jahren aber noch mit Beeinflussungen der Zoogloea vertraut gemacht, welche zwar vielfach zur Artbestimmung verwerthet werden, ohne dass aber der Modus dieser Einflüsse nach der morphologischen Seite bis jetzt eingehender beachtet worden ist. Der Mechanismus des Substrates ist

von grösster Wichtigkeit für den Grad der Ausbildung und die Form der Zoogloea.

Unbewegliche Bakterien verhalten sich im Princip auf festem Substrat genau so wie in Flüssigkeiten und bilden ihre Zoogloea vom Momente der Vermehrung an localisirt, nur ist die Form der Zoogloea noch schärfer ausgesprochen und wegen der deutlicheren Localisation die Bildung von kleinsten Zoogloen oder Colonien früher zu erkennen als in Flüssigkeiten. Ausserdem wird die Bildung schärfer umschriebener Formen der Zoogloea auf festem Nährboden dadurch begünstigt, dass ein Zerfliessen der Schleimmassen nicht oder doch schwieriger und später stattfindet als in Flüssigkeiten. In diesen Momenten liegt der grosse Vorzug der Zoogloea auf festem Substrate zur schnellen Diagnose. Für die Diagnose ist dasselbe bei den beweglichen Bakterien in vielleicht noch höherem Maasse der Fall. Während dieselben in Flüssigkeiten erst das ganze bewegliche Stadium absolviren müssen und dann erst anfangen Zoogloeen zu bilden, werden sie auf festem Substrat gezwungen, sich wie unbewegliche zu verhalten und sich sofort in der Ruheform der Zoogloea zu vermehren.

Die Kulturen auf festem Nährboden haben gezeigt, dass wohl alle Bakterien im Stande sind Zoogloea zu bilden und zwar nicht nur die Bakterien im Sinne von Cohn, sondern auch Arten, welche den Beggiatoen und Cladothrix nahe stehen.

Wählt man als festen Nährboden Nährgelatine, so kann man oft die verschiedensten Grade der Beeinflussung der Form durch den mechanischen Zustand des Substrates beobachten. An der Oberfläche zeigt die Form der Zoogloea oft ein anderes Aussehen als im Innern. Viel auffallender ist aber die Veränderung bei Bakterien, welche die Gelatine verflüssigen. Geschieht dies sehr schnell und verwandeln die Bakterien den festen Nährboden dadurch schnell in eine Flüssigkeit, so bildet sich erst das bewegliche Stadium ebenso aus wie in Flüssigkeiten überhaupt und erst später kommt es zur Bildung von Decken. Geht die Verflüssigung langsam vor sich, so bildet sich erst an der Oberfläche oder im Inneren eine ächte, bisweilen sogar sehr auffallende Zoogloea aus; so sah ich z. B. bei einem Fäulnissbacillus die schönsten verzweigten Zoogloeen entstehen. Mit Zunahme

der Verflüssigung wird die Form dieser Zoogloea zerstört oder stark beeinträchtigt, dann folgt das bewegliche Stadium und, wenn dieses vorbei ist, tritt Bildung von Schleimdecken ein.

Ein weiteres mechanisches Moment ergiebt sich auf festem Nährboden aus der Art des Impfens, indem sich vom Impfstriche oder Impfstiche aus die Zoogloea entwickelt, deren Form ausserdem davon beeinflusst wird, ob die Keime der Oberfläche nahe liegen oder von ihr entfernt sind.

Bei identischen mechanischen Verhältnissen wird die Zoogloea wieder beeinflusst von der chemischen Zusammensetzung, so dass man zu differentialdiagnostischen Zwecken bald dieselbe chemische Zusammensetzung wählt und nur das mechanische Moment ändert, indem man z. B. eine bestimmte Bouillon flüssig oder mit 10% Gelatine oder 1% Agar versetzt anwendet oder dass man dieselben mechanischen Verhältnisse wählt und die chemische Zusammensetzung ändert, indem man z. B. Flüssigkeiten oder 10% Gelatine oder 1% Agar zum Theil mit, zum Theil ohne Zusatz von Zucker gebraucht.

Nach Hauser [1]) konnte in einigen seiner Beobachtungen bei einer zur sicheren Isolirung ungenügenden Festigkeit der Nährgelatine die Form der Zoogloea wechseln und bald korkzieherartig gewunden, bald kranzförmig, bald deutritisch verzweigt erscheinen. Der Grund zu diesem Wechsel liegt, soweit er nicht durch die Art der Impfung mit bedingt war, darin, dass auf einem Substrate, welches nicht von Anfang an fest oder flüssig ist und bleibt, sondern welches durch das Leben der Bakterien aus dem festen in den flüssigen Zustand übergeführt wird, die mechanischen Verhältnisse von Augenblick zu Augenblick sich ändern und durch Bildung und schnellere Vertheilung der Stoffwechselproducte auch der Chemismus des Mediums sich schneller ändert.

Wählt man günstige Flüssigkeiten, wie eine Normalbouillon, und wirklich feste Substrate, so kehrt die Form der Zoogloea unter denselben Verhältnissen so typisch wieder, dass dadurch die Zoogloea zu einem höchst werthvollen Formmerkmale wird, welches zur Art-

[1]) Ueber Fäulnissbakterien, 1885.

bestimmung sehr wohl mit verwerthet werden kann. Verändert man die Aussenbedingungen, indem man die Bildung der Zoogloea nebeneinander auf verschiedenen festen Substraten, 1 % Agar, 10 % Gelatine, Kartoffelscheiben und in einigen Flüssigkeiten, wie Bouillon und Milch, vor sich gehen lässt, so werden damit schnell eine Fülle von Formmerkmalen zugänglich, welche sich allein auf die eine Form der Zoogloea beziehen und damit die Differentialdiagnose gegen früher wesentlich erleichtern.

Aber über den principiellen Werth dieses vorzüglichen und schnell orientirenden, praktischen diagnostischen und differentialdiagnostischen Mittels für die Gattungs- und Artbestimmung darf man sich nicht täuschen. Die Zoogloea ist keine constante Form, sondern sie gehört geradezu zu den „schlechthin veränderlichen“ Formmerkmalen. Sie ist deshalb zur Abgrenzung von Gattungen ganz unbrauchbar und zur Bestimmung von Arten nur unter der angeführten Reserve mit verwerthbar. Exceptionelle Zoogloeen, wie sie bei Leuconostoc und dem Kefir vorliegen, sprechen als Ausnahmen nicht gegen diese Auffassung.

Das schlechthin veränderliche der Zoogloea macht es zur Pflicht, eine schon von Cohn angedeutete Möglichkeit, für welche Zopf durch den Nachweis, dass die Clathrocystis roseo-persicina nur ein Entwicklungsstadium der Beggiatoa roseo-persicina ist, bereits einen positiven Beweis gebracht hat, für die definitive Artbestimmung offen zu halten, dass nämlich vielleicht eine nur in einer Form bekannte Art, z. B. eine Kokkenzoogloea, nicht das Zoogloeastadium einer monomorphen oder relativ einförmigen Art ist, sondern dass sie vielleicht auch einmal in die Entwicklung einer pleomorphen Art gehören kann, deren übrige Formen noch unbekannt sind.

„Eine solche Vermuthung ist wissenschaftlich berechtigt, denn auf der einen Seite alterirt sie den Stand der positiven Kenntnisse in keiner Weise, auf der anderen aber bewahrt sie vor dem Glauben, dass Letztere bereits abgeschlossen sind, vermag also Anregung zu weiteren Untersuchungen zu geben.“

Diese Worte von Zopf[1]) bezeichnen den Zustand unserer Er-

---

[1]) Die Spaltpilze, 3. Aufl., Vorwort.

fahrungen für die eine Form, die Zoogloea, recht treffend, nur darf man dieselben nicht, wie Zopf es thut, auf alle Formen übertragen, man darf dabei nicht vergessen, dass der Nachweis des Pleomorphiums an sich mit Variabilität nichts zu thun hat und dass eine Veränderung der Zoogloea mit Aenderung der Aussenbedingungen für eine Wandelbarkeit der anderen Formen nach dem Substrat nichts beweist.

IX.

Die Wuchsformen der Bakterien.

Nachdem ich versucht habe, die bisher in der Litteratur zur Sprache gekommenen Differenzen zu schildern, muss ich den Versuch machen die Lehren, welche sich daraus für eine unbefangene Beurtheilueg ergeben, zu ziehen. Die allgemeinen Ermittelungen zeigen, dass manche Formmerkmale constanter sind als andere, dass man auf Grund der Formeigenthümlichkeiten Differenzen unter den Bakterien feststellen kann. Aber keines der Formmerkmale allein genügt zur Differenzirung, so dass man genöthigt ist der von Cohn zuerst gestellten Forderung gerecht zu werden und alle der Beobachtung zugänglichen Merkmale zu berücksichtigen. Cohn's eigener Versuch reicht aber bei weitem nicht mehr aus, besonders da er dort versagt, wo er principiell am meisten verspricht, bei der Abgrenzung der grösseren Gruppen. In Einzelheiten, bei den Abgrenzungen einzelner kleinerer Gruppen und Gattungen dagegen sind wir auch jetzt vielfach noch nicht im Stande besseres zu geben, als es von Cohn bereits 1872 geschehen ist und die Berichtigungen treffen unbedeutende Nebendinge.

Der von mir in meinen Vorlesungen seit einiger Zeit und unabhängig von de Bary durchgeführte Versuch, den ich im Folgenden zu Grunde lege, begegnet sich in den wichtigsten Punkten in

so erfreulicher Weise mit den Grundanschauungen von de Bary[1]), dass ich darin eine Garantie sehen darf, dass bereits eine allgemeinere Verständigung[2]) möglich ist, wenn man sich von doctrinären Einseitigkeiten frei macht, welche nur Constanz oder grenzenlose Variabilität kennen. Eine Reihe von Einzelheiten werden dadurch gleichzeitig zur Ergänzung der kurzen Darstellung von de Bary.

Dem gegenwärtigen Zustande unserer Kenntnisse entspricht es am meisten die Formen der Bakterien nicht ohne Weiteres als Gattungs- und Artmerkmale zu betrachten, sondern dieselben zunächst nur als Wuchsformen aufzufassen. Bei den Wuchsformen machen sich dann sofort wieder zwei natürliche Gruppen geltend, indem man die Einzelindividuen trennen kann von den Formen, welche aus besonderen Verbindungsweisen der Einzelzellen sich ergeben.

I. Die Einzelzellen.

Die rein schematische Figur 12, welche die wichtigsten Bakterienformen, deren Einzelligkeit allgemein anerkannt ist, darstellt, giebt zunächst eine Vorstellung, wie es kommen musste, dass sich Nägeli in Folge seiner ganz falschen Auffassung der Ansichten von Cohn gegen „specifische Formen" verwahrte und besonders das Auftreten von allen möglichen Uebergangsformen als Beweis gegen die Existenz specifischer Formen anführte. Hätte Cohn einen Monomorphismus der absurden Art vertreten, wie man ihm bisweilen nachgesagt hat, so müsste jede auch nur etwas abweichende Form, als eine specifische aufgefasst und mit besonderen Namen belegt werden. Davon findet sich aber bei Cohn nichts. Im Geiste einer so widersinnigen Formconstanz müsste man z. B. die Nebenfigur 4, bei der die Längsbegrenzungen eine kleine Strecke parallel gehen

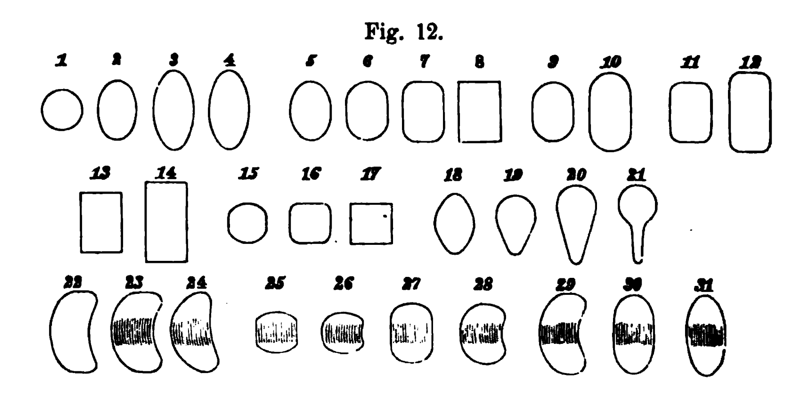
---

1) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze 1884, S. 494. Vorlesungen über Bakterien, 1885 (während des Druckes erschienen).

2) In einer während des Druckes erschienenen und nicht mehr berücksichtigten Arbeit (Archiv für Hygiene 1885, S. 376) schliesst sich H. Buchner im Allgemeinen dieser Anschauung an, wenn er auch noch die Argumente von Cohn nicht vollständig würdigt und diesem Forscher einen von ihm gar nicht vertretenen Monomorphismus vorwirft.

und nur die Enden ellipsoid abgerundet sind, tolo coelo von der gestreckten Ellipse 3 auseinanderhalten. Auf der anderen Seite ist wieder nichts leichter, als theoretisch die Form 4 durch die gestreckte Ellipse 3 und die kurze Ellipse 2 mit der Kugel 1 durch unmerkliche Uebergänge zu verbinden. Die Ellipse 2 führt unmerklich zu der Figur 5, bei der die Seiten etwas parallel laufen und weiter zu den Stäbchen von der Form 6, 7 und 8. Sind Längs- und Querdurchmesser gleich, so führt die Kugel 1 ohne Schwierigkeit durch die Zwischenformen 15 und 16 zu der kurzen, scheibenförmigen Cylinderform 17. Ebensowenig wird es schwer sein, von dem Ellipsoid 2 zu der Spindelform 18 und von dieser durch 19

Fig. 12.

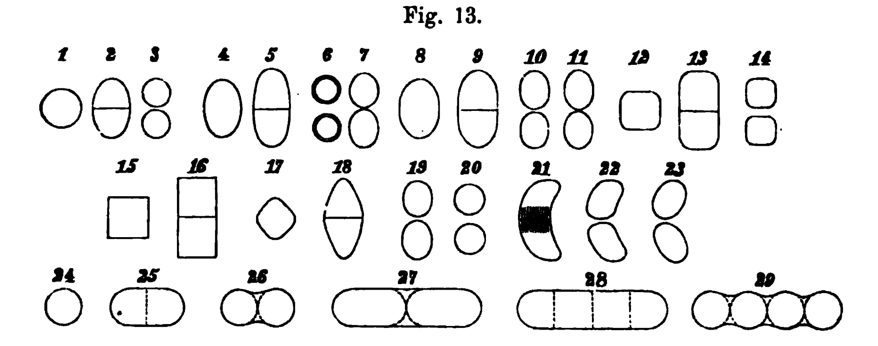


und 20 zur Keulenform 21 zu kommen. Ein gekrümmtes Stäbchen 22 ist von einem schraubigen Stäbchen 23 nicht immer leicht zu unterscheiden und bei kleinsten Schraubenstücken 25 und 26 ist Niemand im Stande, die Form aus dem Ansehen allein zu beurtheilen. Betrachtet man das schraubige Stäbchen 23 von der Fläche, so sieht es, 30, wie das gerade Stäbchen 10 aus, und das schraubige Stäbchen 24 wird von oben oder unten gesehen wie 31 erscheinen und von einer gestreckten Ellipse 3 oder einem Spindelstäbchen nicht oder nur schwer zu unterscheiden sein.

Wenn die Kugel 1 sich nach einer Richtung streckt, hört sie auf Kugel zu sein und wird zur Ellipse 2 oder 3; das Stäbchen 9 wird zur Form 10, ebenso ist das Verhältniss zwischen 11 und 12, 13 und 14, 28 und 29.

Auch die normalen Theilungsvorgänge, wie sie Fig. 13 schematisch giebt, weisen die Annahme einer starren Form entschieden von der Hand. Die Kugel 1 streckt sich zur Ellipse 2, aus deren Theilung die kleinen Kugeln 3 hervorgehen. Die kurze Ellipse 4 nimmt die Form 5 an, bei der man es ganz unentschieden lassen muss, ob man sie als gestreckte Ellipse oder als kurzes Stäbchen mit stark abgerundeten Enden bezeichnen soll, und aus der Theilung der Form 5 gehen Zellen hervor, welche bald mehr als Kugeln 6, bald als deutliche Ellipsen 7 erscheinen. Das Kurzstäbchen 8, welches an sich von der Ellipse 4 nicht oder nur schwer zu unter-

Fig. 13.



scheiden ist, führt zum deutlichen Stäbchen 9; aber bei der Theilung dieser Formen ist es wieder ganz unklar, ob man die kleinsten Theilungsproducte als ganz kurze Stäbchen mit stark abgerundeten Enden 10, oder einfach als Ellipsen 11 bezeichnen soll. Etwas weniger unklar liegen die Verhältnisse bei den Formen 12, 13 und 14, doch wird es bei der letzteren von der Art der Einstellung abhängen, ob man sie nicht lieber als Kugel auffassen soll. Bei 15 und 16 ist kein Zweifel möglich, dass es sich um entschiedene kürzere und längere Cylinderstäbchen handelt. Wenn ein Spindelstäbchen der Form 18 sich theilt, entsteht nicht ein kürzeres Spindelstäbchen von der Form 17, sondern die Theilungsproducte sind zunächst Ellipsen 19 oder Kugeln 20, welche erst beim weiteren Wachsthum die Gestalt des Spindelstäbchens annehmen. Bei der Theilung eines ganzen kurzen Schraubenstäbschens 21 bleibt man oft im Zweifel, ob die kleinsten Theilungsproducte als noch kürzere

Schraubenstücke 22 oder nicht einfach als Ellipsen 23 zu bezeichnen sind. Bei der Vermehrung von kugligen Zellen kommt bisweilen eine verzögerte Ausbildung der Theilung vor, welche zu Formen führt, die gar nicht von deutlichen Stäbchen zu unterscheiden sind. Die Kugel 24 streckt sich zur Form 25, welche in der schraffirten Weise der Figur 26 schliesslich zur Bildung von 2 Kugeln führt. Bisweilen aber erfolgt die Theilung dann noch nicht, sondern es bildet sich ohne irgend welche sichtbare Gliederung erst die Form 27 aus, welche dann in der schraffirten Weise zu zwei Formen der Figur 25 zerfällt, aus denen erst die Kugeln durch weitere Theilung hervorgehen. Oder es kommt vor, dass eine solche Form, wie es bei 28 angedeutet ist, nicht erst in zwei Hälften zerfällt, sondern dass sich gleich 4 Theilungen vorbereiten, welche dann der Form 28 das eingeschnürte, torulöse Aussehen der Form 29 verleihen, aus der durch weiteres Einschnüren eine Kette von 4 Kugeln hervorgeht. An sich sind solche „Pseudostäbchen“ von „ächten Stäbchen“ aber nicht zu unterscheiden und erst die Entwicklung giebt darüber Aufschluss.

Alle diese auf ein Grössenverhältniss, auf eine absolute Grösse der zum Ausgangspunkte dienenden Kugel bezogenen Schwierigkeiten wiederholen sich aber bei jeder absoluten Grösse. Keine Form ist als solche specifisch, eine grosse Kugel ist ebenso gut Kugel wie eine kleine, eine grosse und eine kleine Ellipse, ein Kurz- und ein Langstäbchen derselben Form sind der Form nach nicht specifisch von einander geschieden. Man kann deshalb auch die Formen der verschiedensten Dimensionen theoretisch leicht durch Uebergangsformen mit einander verbinden.

An derartigen Schwierigkeiten ist noch kein Forscher glatt vorbei gekommen, seit Cohn 1872 gezeigt hat, dass es unmöglich ist, zwischen Kugeln, Ellipsoiden, Kurzstäbchen und Langstäbchen der Form nach specifische Unterschiede zu machen und dass bei der normalen Entwicklung diese Formen unmerklich in einander übergehen.

Wenn nichtsdestoweniger später manche Anhänger von Cohn auf die Constanz der Form der Einzelzellen nach dieser Richtung einen grösseren Werth gelegt haben, als Cohn selbst, so wollten sie in erster Linie Stellung nehmen gegen die unrichtige Deutung

der Cohn'schen Lehre durch Nägeli und Zopf, dass der Form gar nichts typisches innewohne. In diesem Sinne glaubte ich früher[1]) überflüssiger Weise bei der Entwicklung der Milchsäure-Bakterien Werth darauf legen zu sollen, dass in der Entwicklung der Form Fig. 13 (8 und 9) die kleinsten Theilungsproducte die Form (10) und nicht die Form (11) haben, während es selbst schwer oder unmöglich ist die Form (8) von der Form (4) und (2) auseinander zu halten.

In diesem Sinne erklärte Flügge[2]): „Niemals haben wir beobachten können, dass wirkliche Kokken in Bacillen sich umwandeln und umgekehrt, und dass diese Umwandlung nur von Ernährungsbedingungen abhängig ist." Diese Erklärung von Flügge war dem Missverständnisse allerdings leicht zugänglich, weil es sich einmal von selbst versteht, dass die Gattung Mikrokokkus sich nicht in die Gattung Bacillus verwandeln kann, wenn beide Gattungen natürliche sind; weil es nach Cohn eine starre Kokkenform ebensowenig wie eine starre Bacillenform giebt, und weil es nach Cohn unmöglich ist, einen ellipsoiden Mikrokokkus von einem ellipsoiden Bakterium und ein stäbchenförmiges Bakterium von einem Stäbchen der Bacillen nur nach der Form der Einzelzellen zu unterscheiden.

Von einer Auffassung der Form als specifisch in dem Sinne, den die Nägeli'sche Schule Cohn, Koch und ihren Schülern vorwirft, findet sich übrigens in den eben angeführten Arbeiten nichts, indem ich z. B. bei derselben Gelegenheit den Formcyklus der Milchsäurebakterien unter den verschiedenen Aussenbedingungen geschildert und auf seine Aehnlichkeit mit dem Formcyklus von Cohn's Bacterium termo hingewiesen habe. Und Flügge erklärte: „Wir leugnen nicht etwa das Vorkommen verschiedener Formen bei ein und derselben Spaltpilzart; wir wissen, dass die meisten gewisse Entwickelungsformen durchlaufen, dass die Bacillen in Faden- und Sporenform vorkommen; wir wissen ferner, dass das Alter der Individuen ihre Form beeinflusst und dass die jüngsten Bacillen oft nicht leicht von Kokken zu unterscheiden sind; wir kennen endlich

1) Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, II, 1884, S. 339.
2) Deutsche med. Wochenschrift 1884, No. 46.

Degenerations- und Involutionszustände, die mit gewissen Formveränderungen einhergehen."

Dass es übrigens den Gegnern von Cohn nicht besser gegangen ist, ersieht man beispielsweise daraus, dass Zopf von kurzen Stäbchen spricht, die „fast mikrokokkenartig erscheinen" und die „mikrokokkusartigen Kurzstäbchenform" erwähnt.

Die Thatsache, dass es unmöglich, zum mindestens sehr schwierig ist nach der Form der Einzelzelle etwa Gattungen oder Arten auseinanderzuhalten, giebt Koch z. B. zu, wenn er findet[1]), dass genügende Unterschiede zwischen Bacillen und Spirillen noch nicht gefunden sind, das heisst im Sinne von Cohn und Nägeli, dass man zwischen geraden, gekrümmten und schraubigen Stäbchen nicht immer scharf unterscheiden kann, während natürlich zur Bestimmung der Gattungen Bacillus und Spirillum von Cohn, wie früher dargelegt, noch eine Reihe weiterer Formmerkmale zu Gebote steht, welche trotz dieser Schwierigkeit, wie Koch selbst[2]) gezeigt hat, deutliche Unterschiede dieser Gattungen ergeben.

Wenn Cohn und seine Anhänger trotz der Unmöglichkeit zwischen den verschiedenen Formen der Einzelzellen scharfe oder gar specifische Unterschiede zu finden, und trotz der durch die normale Entwicklung bedingten Formabweichungen daran festgehalten haben der Form der Einzelzelle einen hohen Werth beizulegen, so waren es hauptsächlich folgende Momente. Unter identischen Bedingungen kehrt immer eine bestimmte Form der Einzelzellen typisch wieder und wenn man die Formen der verschiedenen Bakterien bei gleicher Vergrösserung und Präparation beobachtet, sind die Dimensionen so ausserordentlich verschieden, derart dass die theoretisch construirbaren Uebergangsformen überhaupt vollständig ausser Frage bleiben.

Die Fig. 14 zeigt dies an einigen Beispielen und zwar die Figuren I bei ca. 900 bis 1000facher Vergrösserung nach Zeichnungen, die Figuren II bei ca. 700maliger Vergrösserung nach

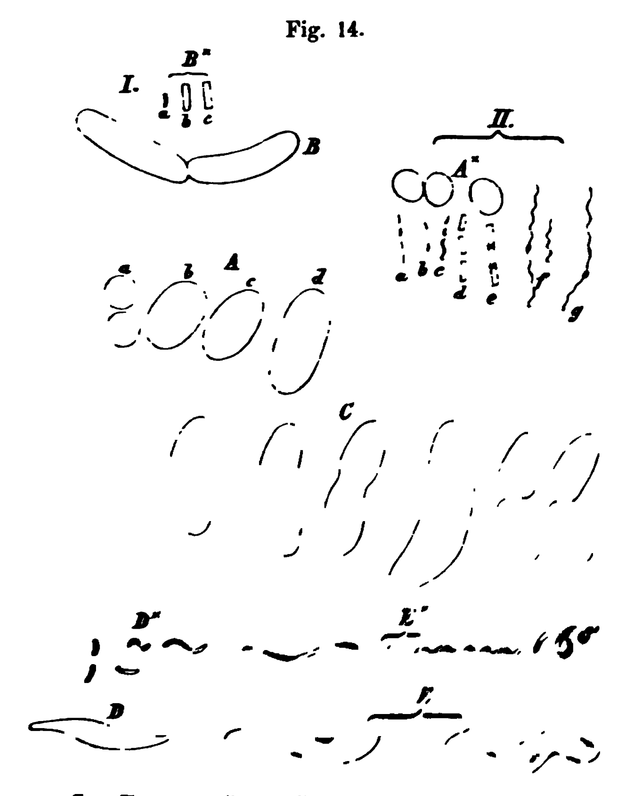
---

1) Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage, II. Deutsche med. Wochenschrift und Berliner klin. Wochenschrift, 1885, No. 37.

2) Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage, I. Deutsche med. Wochenschrift 1884, No. 32 und Berliner klin. Wochenschrift, 1884, No. 31.

Photogrammen. Die grossen Formen bei I gehören Beggiatoen an; A ist die frühere sogenannte Monasform, deren einzelne Formen a, b, c und d wohl mit kleineren, gleichfalls kugeligen ellipsoiden und Kurzstäbchen-Formen verglichen werden können, aber durch ihre Dimensionen von denselben so different und typisch geschieden sind, dass man diese Differenz auch zur specifischen Unterscheidung vorzüglich mit verwerthen kann.

Fig. 14.



Zum Theil nach Koch, Zopf und van Ermengem.

B ist die frühere [illegible], welche von den zum Vergleiche [illegible] Formen B' deutlich different ist, so dass man [illegible] zur A[illegible] [illegible] im Gegensatz zu B unter [illegible] [illegible] die Bakterien [illegible]

für Bacillus anthracis ist. Auch die gekrümmten stäbchenförmigen Formen C zeigen diese enormen Differenzen und ebenso die früher als Spiro- und Ophidomonas beschriebenen schraubigen Formen D und E, wenn man sie mit anderen Schraubenbakterien vergleicht, z. B. bei D$^{\times}$ mit Kommabacillen und bei E$^{\times}$ mit den schraubigen Fäden der Kommabacillen, die noch dazu in der Zeichnung etwas zu breit ausgefallen sind.

Bei der Zeichnung II, bei der die Grösse der Blutkörperchen A$^{\times}$ zum Maasstabe dienen kann, kann der Unterschied nicht immer so auffallend sein, aber er bleibt auch dann noch gross genug, so dass man im Stande ist a als charakteristisch für die Bacillen der Mäuseseptikaemie, b der Tuberkulose, c der Cholera asiatica, d des malignen Oedems und e des Milzbrandes anzusehen.

Dagegen zeigen die schraubigen Fäden von Febris recurrens, f, und Cholera asiatica, g, dass die Form allein nicht immer ausreicht, wie es von Cohn für andere, besonders für die bei seinen Mikrokokken vorkommenden Formen bereits 1872 mitgetheilt war.

Mit Rücksicht darauf, dass der grösste Theil der Missverständnisse und Controverse daher rührt, dass ursprünglich zur Gattungsbezeichnung dienende Namen zum Theil noch in diesem Sinne verwendet werden, während sie von anderen Beobachtern nur zu Formbezeichnungen gebraucht werden, empfiehlt sich auf jeden Fall die Namen der Formen scharf auseinander zu halten von den Gattungsnamen.

Da die verschiedensten Formen der Einzelzelle vorkommen, müsste man strenggenommen für jede Form derselben einen besonderen Namen wählen, bei dem dann wieder durch diesen Namen die Abweichungen nicht sicher bezeichnet werden können, welche durch die Theilungsvorgänge bedingt sind. Unter diesen Umständen scheint es mir viel praktischer auf eine solche, nur zu neuen Missverständnissen führende Nomenclatur ganz zu verzichten und die beobachteten Formen einfach zu beschreiben, z. B. anzugeben auf Kartoffeln bildet diese oder jene Art scharf abgesetzte cylindrische Kurzstäbchen, Langstäbchen und Fäden, oder eine andere Art bildet kugelige Zellen, kürzere oder längere Ellipsoide.

Wenn man aber die biologischen Bedingungen berücksichtigt, unter denen die Einzelzellen als solche besonders auffallen, so findet man, dass es gerade die Zustände sind, bei denen die Bakterien ihre specifische Thätigkeit ausüben, so dass die Formen der Einzelzellen in erster Linie auch **die vegetativen Formen** darstellen. Aus diesem Grunde besonders empfiehlt es sich, die Formen, unter denen uns die Einzelzellen entgegentreten, in einigen grossen Gruppen zu vertheilen, welche aber selbstverständlich nicht schroff von einander geschieden sind.

A. Die Kokkenform umfasst isodiametrische, kugelige und nur wenig gestreckte ellipsoide Zellen. Die früher häufig für die verschiedenen Grössen gebrauchten Namen, Mikrokokken, Makrokokken oder Monaden sind, weil sie zu Missverständnissen führen und zum Theil als Tribus- und Gattungsbezeichnungen dienen, als Namen für Formen aufzugeben.

B. Die Stäbchenform ist nach einer Seite deutlich gestreckt. Sind die Längsbegrenzungen derartig gestreckter Zellen nicht parallel, sondern ist der Breitendurchmesser an einer Stelle stärker, sodass die Form einer Spindel oder Keule entsteht, so kann man diese Stäbchen a) als Spindelstäbchen bezeichnen. Sind die Längsbegrenzungen auf eine Strecke deutlich parallel, so haben wir b) das gerade Stäbchen. Sind bei den letzteren die Enden stark abgerundet, so sind die kleineren derselben nicht oder nur schwer von einem Ellipsoid oder Spindelstäbchen zu unterscheiden, während bei scharf abgesetzten Enden die Form eines zweifellosen cylindrischen Stäbchens entsteht, welches bei geringem Längsdurchmesser sich der Scheibenform nähert. Eine Trennung in Kurzstäbchen und Langstäbchen ist überflüssig oder hat doch nur eine ganz nebensächliche Bedeutung. Ist die Membran des Stäbchens starr, so bleibt es gerade, während es bei flexiler Membran auch als gekrümmtes Stäbchen erscheinen kann.

C. Die Schraubenform umfasst schraubig gedrehte Stäbchen oder Schraubenstäbchen, welche bei oberflächlicher Betrachtung leicht als einfach gekrümmte Stäbchen erscheinen, wie sie in letzter Zeit unter dem Namen „Kommabacillen" schnell populär geworden sind. Die Länge der deutlichen einzelligen

Schraubenstäbchen schwankt derart, dass sie das zwei bis vierfache des Querdurchmessers beträgt. Die Krümmung, oder genauer die schraubige Drehung ist bei starrer Membran mehr formbeständig, während sie bei flexiler Membran wechseln kann, sodass die Krümmung bald ganz flach, bald fast halbkreisförmig erscheint.

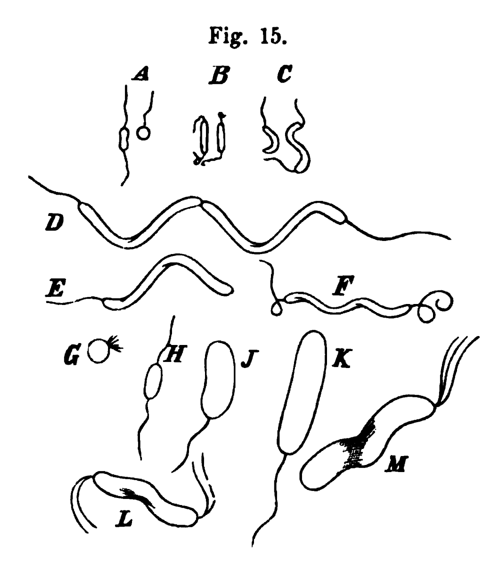
II. Die unter I. geschilderten Formen sind in der Regel zugleich die vegetativen Formen und können in dieser Form **frei** leben und sich vermehren. Bei der Vermehrung durch Theilung macht sich eine Differenzirung des Bakterienprotoplasma bemerkbar, indem sich, wenigstens bei den grösseren Formen, eine Körnelung des vorher scheinbar homogenen Inhalts einstellt. Bei der Färbung wird dies oft so deutlich, dass man zur Ansicht gezwungen wird, dass das Bakterienprotoplasma aus einer nicht färbbaren und einer in derselben gleichmässig vertheilten chromogenen Substanz gebildet wird. Besonders bei den grösseren Stäbchenformen schien mir in der Regel die Differenzirung der färbbaren Substanz mit einer Anordnung der chromogenen Körner in Streifen zu beginnen. Dann sammelt sich diese Substanz mehr nach den Polen zu, während in der Mitte ein mehr oder weniger breiter Streifen ungefärbt erscheint, und erst dann stellt sich die Bildung einer Querwand ein, durch welche definitiv die Mutterzelle in zwei Tochterzellen getrennt wird. Die trennende Membran, welche zugleich ein Theil der Zellmembran der Tochterzellen ist, ist besonders bei den kleineren Formen oft so fein, dass sie nur durch Reagentien sichtbar gemacht werden kann, welche das Protoplasma zum Schrumpfen bringen und dadurch gegen die Membran besser abheben. Vor der Theilung streckt sich die Zelle meist deutlich in die Länge, bisweilen unter gleichzeitiger Vergrösserung des Breitendurchmessers, so dass Formabweichungen zwischen der zur Theilung sich anschickenden Mutterzelle, den kleinsten Theilungsproducten und den mehr typischen Mittelformen ganz unvermeidlich sind.

Dieser morphologische Eindruck sowohl als der Umstand, dass die Bakterienfärbung im Wesentlichen nur eine modificirte Kernfärbung ist, legen eine Analogie der Kerntheilung mit der Theilung des Bakterienprotoplasma sehr nahe. Doch ist es bei unseren opti-

schen Hilfsmitteln und dem Stande unserer einschlägigen mikrochemischen Reactionen, von denen einzelne zudem Differenzen andeuten, verfrüht, in dieser Aehnlichkeit eine wirkliche Homologie und Identität zu sehen, oder sicher zu unterscheiden, welcher Theil der Bakterienprotoplasma vielleicht mit dem Kern, und welcher etwa mit dem Zellinhalt anderer Pflanzenzellen direct verglichen werden kann. Bis jetzt ist ein morphologisches Homologen eines Kernes nicht beobachtet, doch deuten die erwähnten Punkte sowohl als Einlagerungen von körnigen Elementen, welche bei einzelnen Bakterien Amylum- oder Granulosereaction geben, und bisweilen zu beobachtende vacuolenartige und fetttröpfchenähnliche Gebilde, Schwefelkörner, darauf hin, dass die Bakterienzelle etwas complicirter ist, als man meist annimmt.

Gerade bei den freilebenden, vegetativen Formen bemerkt man häufig eine auffallende Bewegung, welche der Hauptgrund war die Bakterien zuerst den Thieren, speciell den Monaden zuzurechnen. Bei einer solchen Form, welche er als Gattung Ophidomonas beschreibt, war bereits von Ehrenberg[1]) „ein fadenförmiger Rüssel als Bewegungsorgan" beschrieben worden. Später fand Cohn[2]) bei Spirillum volutans, Fig. 15 F, an jedem Ende einen Geisselfaden, welche durch ihre Bewegung an beiden Enden Wirbel in der Flüssigkeit bildeten. Warming (S. 17) ermittelte 1875 bei Ophidomonasformen nicht nur solche mit

Fig. 15.



1) Die Infusionsthierchen, 1838, S. 43.

2) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, I, Heft II, 1872, S. 183.

einer Geissel, sondern auch Individuen mit zwei, Fig. 15 L, und selbst drei, M, Geisselfäden. Im selben Jahre gelang es Dallinger und Drysdale[1]) bei sehr kleinen, als Bakterium termo aufgefassten beweglichen Bakterien geisselartige Fäden durch eine besonders intensive schiefe Beleuchtung zu sehen. Dass diees Beobachtungen von der Existenz geisselartiger Anhänge bei beweglichen Bakterien richtig sind, zeigte Koch[2]) durch die Photographie derselben, indem er sowohl bei Stäbchenformen, Fig. 15 B, als bei Schraubenformen, Spirillum undula, C, dieselben durch besondere Präparation fixirte. Auch für Kugelformen giebt Zopf, Fig. 15 A, derartige Gebilde an, die er besonders bei den Monasformen von Beggiatoa roseo-pursicina, G, H, J, K, und den Stäbchen- und Schraubenformen von Cladothrix, Crenothrix und Beggiatoa, D und E, beobachtete.

Mit derartigen Beobachtungen schien die Frage definitiv gelöst zu sein, dass die Bewegungen der Bakterien durch besondere Bewegungsorgane, Cilien, Geisseln, Flagellen verursacht sind, und man ging sogar so weit, geradezu aus der Bewegung oder dem Auftreten von Wirbeln an den Enden beweglicher Bakterien auf die Anwesenheit von derartigen Organen zu schliessen. Wie weit dies z. B. besonders bei der schwärmenden Kokkenform A der Fall ist, ob es sich dabei nur um schwärmende Kokken, oder um nachgewiesene Cilien handelt, ist schwer zu sagen, vielleicht handelt es sich dabei um eine Art Schwärmsporen.

Wenn auch die Botanik die Existenz von beweglichen, mit Cilien begabten Zellen, von Schwärmzellen und Schwärmsporen in grösserer Ausdehnung festgestellt hat, so liegt darin allein kein Grund, jede Bewegung bei niedersten Pflanzen von besonderen Bewegungsorganen abhängig sein zu lassen. Schon Perty hatte 1852 erklärt, dass die Bewegung der Bakterien gar nicht so thierähnlich sei, wie man nach Ehrenberg und Dujardin annahm, sondern mehr der Bewegung der Oscillarien gleiche, und bei diesen viel grösseren Pflanzen

---

1) On the existence of flagella in Bacterium termo. Monthly Microscopical Journal. Sept. 1875.

2) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, II, Heft III, 1877.

kennt man jetzt noch keine besonderen Bewegungsorgane. Ebensowenig ist etwas Derartiges von Diatomaceen bekannt. Bei solchen pflanzlichen Organismen hat man die Bewegung dadurch zu erklären versucht, dass an den beiden Enden der Zellen oder Zellfäden Ungleichheiten in der Diosmose der Nährstoffe vorhanden sind.

Sind nun die Cilien der Bakterien zunächst wirkliche Cilien, d. h. Fortsätze des Bakterienprotoplasma, welche event. wieder eingezogen werden können und welche bei Anwesenheit einer Membran durch eine präformirte Oeffnung derselben nach aussen treten, ohne mit der Membran als solcher in Zusammenhang zu stehen? Schon die ganze Präparation, durch welche es Koch gelang die Cilien zu fixiren und dadurch der Photographie zugänglich zu machen, spricht sehr entschieden gegen die protoplasmatische Natur dieser Gebilde. Bei anderen Bakterien, z. B. dem Clostridium butyricum, fand van Tieghem, dass dessen Cilien mit Kupferoxydammoniak Cellulosereaction zeigen. Van Tieghem[1]) hielt in Folge dessen die Cilien der Bakterien überhaupt nicht für ächte contractile Cilien, sondern für einfache Fortsätze oder Anhänge der Membran.

In diesem Falle sind nicht die Cilien das Bewegende, sondern das Bewegte und die Bewegung würde nach van Tieghem dadurch zu Stande kommen, dass der protoplasmatische Inhalt der Zelle sich contrahirt. Für die Auffassung, dass die Bewegung bei den Bakterien durch Differenzen in der Diosmose an den Enden der Zellen, ähnlich wie bei Diatomaceen oder Oscillarien, zustande kommt, macht Kurth[2]) besonders die Beobachtung geltend, dass längere Stäbe und Fäden unter Umständen eben so lebhaft beweglich sein können, wie Einzelzellen. Dieselben Bewegungsorgane, welche sonst nur eine einzige Zelle in Bewegung setzen können, müssten auf einmal fähig sein, die 8 bis 10fache und noch grössere Zahl von Zellen zu bewegen, da bei den Fäden nur die beiden Endzellen Cilien besitzen können.

---

[1]) Sur les prétendus cils des bactéries. Bulletin de la Société Botanique de France. T. 26, 1879, S. 37.

[2]) Botanische Zeitung 1883, S. 395.

Zopf machte dann[1]) Beobachtungen, welche dafür sprechen, dass bei gewissen Arten, wie Beggiatoa, Cladothrix und Crenothrix die geisselartigen Gebilde ächte Cilien, d. h. contractile Protoplasmafortsätze sind. Beim Zerfalle von Cladothrixfäden zeigte sich sofort an der Theilungsstelle, und nicht nur an dem schon vorher freien Ende eine lebhafte Strudelbewegung, wobei er allerdings das Auftreten von derartiger Bewegung als Beweis für die Existenz von Cilien betrachtet, wenn er sagt, „dass sie sofort nach ihrer Ablösung an beiden Polen Strudel, also Cilien zeigten, mittelst deren sie lebhaft schwärmten.“ Wichtiger ist deshalb seine weitere Angabe, dass er bei einer der Monasformen von Beggiatoa roseo-persicina direct beobachtet habe, „dass die hier sehr dicken und langen Cilien sofort eingezogen werden, wenn man Reagentien wie 1 % Ueberosminiumsäure wirken lässt.“

Aus unseren bisherigen Erfahrungen geht hervor, dass die Anwesenheit von ächten protoplasmatischen Geisseln keine conditio sine qua non ist für die Bewegungen der Bakterien. Weiter wird es sehr wahrscheinlich, dass sich unter den bisher als Geisseln, Cilien oder Flagellen bezeichneten Gebilden morphologisch ungleiche und wohl auch physiologisch nicht gleichwerthige Dinge befinden. Diese Unsicherheiten und Unklarheiten sind für die Frage der Artbestimmung sehr zu bedauern. Wenn man z. B. einwandsfrei zeigen könnte, dass der Bacillus subtilis entweder seine Bewegung ächten protoplasmatischen Cilien verdankt oder doch wenigstens, dass er constant Gebilde besitzt, welche den Cilien ähnlich sind, während man ebenso einwandsfrei nachweisen könnte, dass dem Bacillus anthracis, auch wenn er einmal geringe Bewegungen zeigt, niemals etwas ähnliches zukommt, so würde eine derartige Beobachtung eine neue wichtige morphologische Differenz zwischen den beiden Arten sicher stellen. Davon ist aber bis jetzt keine Rede, sondern man konnte bis jetzt sicher nur sagen, dass der Bacillus subtilis im vegetativen Stadium lebhaft beweglich ist, während der Bacillus anthracis unbeweglich oder doch höchstens schwerfällig beweglich ist. Dass die Lebhaftig-

[1]) Zur Morphologie der Spaltpflanzen 1882, S. 7, die Spaltpilze 3. Aufl., 1885, S. 17.

keit der Bewegung aber mit dem Vorhandensein der cilienartigen Gebilde an sich nichts zu thun hat, ergiebt sich aus Koch's Angabe, dass die, Fig. 15 B, mit Cilien photographirten Bacillen eine „schwerfällige wackelnde Bewegung" zeigen.

III. Die Verbände der Einzelzellen.

Der Protoplasmakörper der Bakterie ist umgeben von einer Membran, welche manchmal so starr ist, dass die Form der Zellen constant bleibt, während sie in anderen Fällen wieder dehnbar, flexil ist, so dass sie Bewegungen des contractilen Inhalts zu folgen vermag. Die äusseren Schichten dieser Membran sind fortwährend in Auflösung oder Quellung begriffen, so dass man als eigentliche Zellmembran strenggenommen nur die festere, innerste Lamelle einer gelatinösen Hülle ansprechen kann, welche das Bakterienprotoplasma umgiebt. Sind die Bakterien in Bewegung, so streifen sie die äusseren in Quellung begriffenen Schichten der Membran ab, so dass nur die innerste und eigentliche Zellmembran deutlich ist. Kommen bewegliche Bakterien zur Ruhe oder sind die Bakterien an sich unbeweglich, so werden die äussersten in Quellung begriffenen Schichten der Membran nicht abgestreift, sondern dieselben führen zu einer festeren Vereinigung der Einzelzellen. Diese dadurch resultirenden Gallertmassen sind in ihrer Consistenz verschieden und wechseln von einem in Wasser leicht zerfliessenden Schleim bis zu knorpelharten Massen. Auf die Consistenz hat nicht nur die Festigkeit resp. der Wassergehalt des Nährbodens und die chemische Zusammensetzung der Nährlösungen, sondern wohl auch die chemische Zusammensetzung der Membran Einfluss. Bei einigen unbestimmten Fäulnissbakterien besteht nach Nencki und Schaffer[1]) die Membran zum grössten Theil aus einem Mycoproteïn genannten Eiweisskörper. Nach Kuschbert und Neisser[2]) soll die Membran der Bakterien der Xerosis conjunctivae sehr fetthaltig sein. Bei den meisten Bakterien, besonders gut bei Leuconostoc, Sarcina ventriculi nachweisbar, be-

---

[1]) Beiträge zur Biologie der Spaltpilze von Nencki, 1880, S. 35.

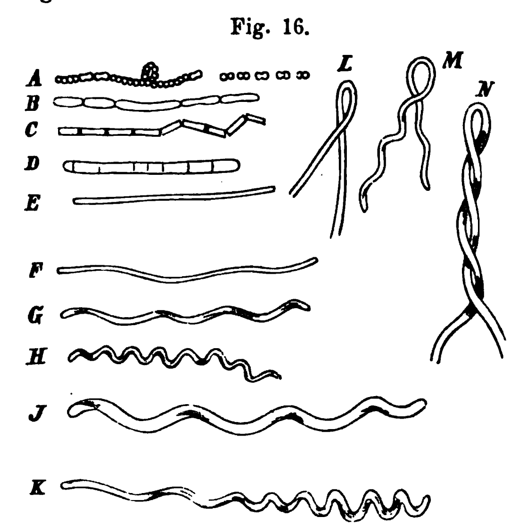
[2]) Breslauer ärztl. Zeitschrift 1883, No. 4; Deutsche med. Wochenschrift 1884, No. 21.

steht die Membran aus Cellulose. Während des Vergallertens oder Aufquellens der Membran, und in Flüssigkeiten wenigstens meist schon vor dem Auftreten grösserer Schleimmassen wahrnehmbar, machen sich noch besondere Wachsthumsrichtungen und dadurch bedingte Formeigenthümlichkeiten geltend.

Schon aus diesen Angaben erhellt, dass, wenn bestimmte Formverbände sich bilden, dieselben unbewegliche Bakterien von Anfang an betreffen können, dass sie bei beweglichen sich aber auffallend erst einstellen, wenn dieselben in Ruhe übergehen, so dass man als Regel annehmen kann, dass solche Formverbände entweder unbewegliche Bakterien enthalten oder Ruheformen von beweglichen Bakterien darstellen.

.A. Bei der Vermehrung erfolgt das Wachsthum in einer Richtung und es entstehen Ketten von Einzelzellen. Bei der Kokkenform, Fig. 16 A, sind die Grenzen der Einzelglieder immer scharf von einander abgesetzt und auch bei den zur Theilung sich anschickenden oder in Theilung begriffenen Gliedern ist eine Täuschung über die Zellgrenzen nicht möglich. Derartige Ketten wurden früher auch als Torula oder Rosenkranzform bezeichnet; von Billroth wurde für diese Form auch der Name Streptokokkus gebraucht.

Fig. 16.



Die Ketten der Spindelstäbchen B zeigen wohl Einschnürungen, doch ist die Grenze der Einzelzellen nicht immer deutlich. Bei den Ketten der geraden Stäbchen ist bisweilen, wenn die Enden der Einzelzellen eine scharf markirte Form besitzen, eine deutliche Gliederung zu sehen, Fig. 22 C, a. Doch ist das deutliche Auftreten dieser Form zum Theil abhängig von der Art der Präparation, so dass es nicht

immer so scharf markirt ist wie bei C. Bei vielen Stäbchenketten ist eine Gliederung nur schwer oder nur an einzelnen Stellen zu erkennen, Fig. 16 D und Fig. 1 E; Fig. 6 D, F. Oft erscheinen die Ketten der Stäbchenform geradezu ohne jede Segmentirung E; Fig. 6 E. Man nennt deshalb die Ketten der Stäbchenform meist Fäden und bei ganz undeutlicher Gliederung wohl auch Scheinfäden. Lange scheinbar ungegliederte Fäden bezeichnete man früher auch als Leptothrix und Mycothrix. Die Fäden der Stäbchen sind bald gerade E, oder bei flexiler Membran biegsam und mehr oder weniger deutlich wellenförmig gebogen F und Fig. 1 E; Fig. 6 C.

Die Fäden der Schraubenstäbchen sind schraubig gewunden und werden meist kurz als Schrauben bezeichnet. Die Form wechselt von ganz flach ausgezogenen, scheinbar einfach wellig gebogenen, schraubigen Fäden, Fig. 16 G; Fig. 1 F; Fig. 3 C; Fig. 6 H bis zu eng gewundenen Schrauben, Fig. 16 J; Fig. 1 J; Fig. 4 A; Fig. 9 B. Die schraubigen Fäden sind bald starr, so dass die Bewegungen um eine fast mathematisch vorgezeichnete Axe zu erfolgen scheinen, Fig. 16 G, J; Fig. 1 H, J; Fig. 4 A, bald flexil, Fig. 16 H; Fig. 4 B und C; Fig. 9 C. Bisweilen sieht man auch zwei schraubige Fäden umeinander gewunden, Fig. 1 G und H; Fig. 4 C, b. Gerade sowohl, Fig. 16 L, als schraubige, Fig. 16 M, flexile Fäden können Schleifen, Fig. 5 C; Fig. 6 E und F; Fig. 9 F, bilden, wobei eine Knickung durch die Flexilität der Membran und die Cohaerenz der Gallerthülle verhindert wird. Statt eine einfache Schleife zu bilden, kann sich aber auch der Faden am älteren Theile peitschenschnurartig aufwinden, Fig. 16 N; Fig. 5 C; Fig. 6 G; Fig. 9 F. Diese Umschlingungen, früher als Form-Gattung Spirulina genannt, finden sich auch bei Fäden, welche, wenn sie frei vorkommen, nicht eine Spur einer schraubigen Windung zeigen; ich habe sie bei ächten Bacillen, z. B. bei b. anthracis und bei Spirochaeten, gefunden, bei relativ einförmigen ebenso gut gesehen wie bei entschieden pleomorphen Arten.

Die Bildung dieser Form schien mir wesentlich von mechanischen Momenten abzuhängen und zwar einmal von einer entschiedenen Flexilität des Fadens, dann besonders von Eigenthümlichkeiten des Nährbodens. Besonders häufig fand ich sie bei Bakterien, welche

die Gelatine nur langsam verflüssigten oder erweichten, so dass einerseits die nichtalterirte Gelatine dem directen Weiterwachsen ein Hinderniss bot, wodurch der Faden aus seiner ursprünglichen Wachsthumsrichtung abgelenkt wurde, während andererseits der abgelenkte Faden in dem schon alterirten Theile der Gelatine keine weiteren Hindernisse zu überwinden hatte. Je nach der Richtung in der der zurückkehrende Faden den ursprünglichen traf oder kreuzte, bildete sich dann einfach eine Schleife oder die Berührung wurde, unterstützt durch den innigen Contact der Gallerthüllen, eine innigere und der eine Faden rankte sich wie an einer Stütze an dem anderen auf. Für diese Auffassung kann ich weiter anführen, dass in Lösungen solche Umschlingungen von Anderen und mir nur bei schraubigen Fäden beobachtet wurden. Der Werth dieser Form hat auf jeden Fall mit derartigen Beobachtungen jede besondere Bedeutung verloren.

Bei flexilen Fäden kann es zu vollständigen Knäueln kommen, Fig. 6 E, F. Aber auch an einzelnen Fäden sieht man bisweilen verschiedene Schraubenformen vertreten. Fig. 5 A, B; Fig. 9 D, E.

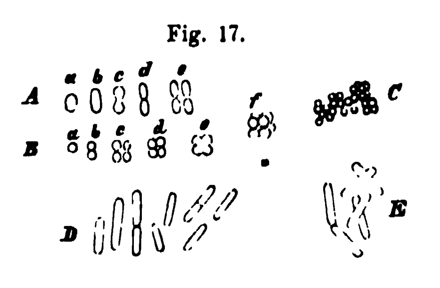
Bisweilen zeigen die Fäden einen Gegensatz von Basis und Spitze, indem das eine Ende an einen festen Körper anhaftet, während das andere frei in die Flüssigkeit hineinragt. Bei Cladothrix, Fig. 5 A, kommt sogar eine eigenthümliche Verästelung, auch überflüssiger Weise als falsche oder Pseudoverzweigung beschrieben, vor, indem ein Glied aus der ursprünglichen Wachsthumsrichtung ausweicht und in dieser neuen Richtung neben dem ursprünglichen Faden weiterwächst.

Nach meiner Darstellung soll man als Stäbchen und Schraubenstäbchen nur Einzelzellen bezeichnen, während Faden immer einen Verband von Einzelzellen bezeichnet. So gut sich dies auch theoretisch motiviren lässt, so schwierig kann es praktisch bisweilen sein, diese Grenze genau zu erkennen. Ehrenberg, Perty, Nägeli und seine Schüler sind theoretisch ganz sicher, dass eigentlich alle Bakterien resp. Fäden aus isodiametrischen Gliedern bestehen. Faktisch hat aber Buchner trotz dieser bequemen Theorie selbst ermittelt, dass sogar ziemlich lange einzellige Stäbchen vorkommen können und alle nicht voreingenommenen Forscher haben beobachtet, dass mindestens noch Glieder zweifellos einzellig sein

können, welche viermal so lang wie breit sind, und Kurth verwahrt sich sehr entschieden gegen die Nägeli'sche Annahme. Man findet, auch mit den zur Darstellung der Gliederung zuverlässigsten Reagentien, nach Arten und Entwicklungsstadien schwankend, längere und kürzere Glieder. Auf der anderen Seite hat man sich aber auch zu hüten, aus dem bei Vermeidung von Reagentien scheinbar einheitlichen Eindrucke auf Einzelligkeit zu schliessen. Cohn hat sich zwar bei den Fadenbakterien gegen diesen Irrthum leidlich geschützt, bei seinen Schraubenbakterien aber nicht in gleicher Weise. Der Grund zu der Annahme, dass auch längere Fäden einheitlich sein können, liegt darin, dass spontan längere Stäbchen, Fig. 1 E, oder flache Schrauben, Fig. 1 F, oder stärker gewundene Schrauben, Fig. 15 D, wenn sie eine gewisse Länge erreicht haben, an der ältesten Gliederungsstelle die Theilung eintreten lassen, so dass man leicht darauf verfallen kann, das überhaupt erfolgende spontane Eintreten einer Theilung als Zeichen anzusehen, dass vorher keinerlei Gliederung bestand.

Wenn man demnach nur nach dem ersten Eindrucke von Stäbchen und Schrauben spricht, kann es sich nur um den Eindruck solcher Gebilde, um den Habituseindruck von Stäbchen und Schrauben handeln. Durch eine besondere Untersuchung ist für jeden Fall zu ermitteln, ob ein derartiges Stäbchen oder eine Schraube wirklich als Stäbchen oder Schraubenstäbchen d. h. als einzellig oder ob es als Faden d. h. als mehrzellig zu betrachten ist.

Fig. 17.



B. Die Vermehrung der Zellen erfolgt nicht in einer einzigen, sondern in zwei aufeinander senkrechten Richtungen und es entstehen successive, Fig. 17 A, die Stadien a bis e, so dass die Höhe des Formverbandes durch 4 in einer Fläche verbundene Zellen, e, eine Tetrade, dargestellt wird.

C. Bisweilen erfolgt noch eine weitere Vermehrung in einer dritten Richtung, so dass als Höhestadium des Verbandes 8 packet-

förmig nach drei Dimensionen des Raumes angeordnete Zellen, Fig. 17 B, f, resultiren.

Bisweilen findet man als Zwischenstadium die Tetrade mit ganz undeutlichen Grenzen, B, e, und hat darin eine besondere „Theilung über's Kreuz durch Scheidewände, die aufeinander senkrecht stehen" erblickt. Soweit ich dies beobachten konnte, zeigt das Auftreten dieser Form nur eine festere Vereinigung der Zellanordnung d, und mit Reagentien und Anilinfarben konnte ich meist die Zellgrenzen wieder deutlich machen, so dass ich geneigt bin, diese Form auf eine Vergallertung der trennenden Zellmembranen zurückzuführen, durch welche schliesslich auch die Packete zerfallen. Auch bei den Packeten von 8 Zellen, Fig 20 B, c, kommen schnell die Waarenballen ähnlichen Formen, Fig. 20 B, e, zu Stande. Bisweilen schon ohne weitere Präparation, oft erst nach Einwirkung von Reagentien lösen sich aber die Packete der Form e in die der Form d auf. Ich halte danach die in d erscheinenden Kügelchen für dieselben wie c und fasse das grössere Packet auf, als durch geringe Quellung der Gallertmembranen entstanden, wodurch die einzelnen Zellgrenzen undeutlich geworden sind. In den Kügelchen von d Kerne zu sehen, widerspricht unseren anderweitigen Erfahrungen zu schroff.

Geht die Quellung der Membranen der Tetrade, Fig. 17 B, e, noch weiter, so zerfällt dieselbe, die einzelnen Zellen werden frei und es wiederholt sich die Entwicklungsreihe, Fig. 17 A, a bis e; dasselbe geschieht, wenn die Quellung des Packets, Fig 20 B, d, so weit geht, dass der Verband gelockert wird. Bei der Vermehrung können schliesslich aus einer Tetrade grosse Tafeln, Fig. 20 A, entstehen, in denen immer je 4 Zellen fester vereinigt sind, oder grössere Packete, in denen immer je 8 Zellen eine festere Verbindung zeigen.

D. Häufiger kommt es vor, dass die Zellen bei der Theilung sich nicht so characteristisch anordnen, sondern unregelmässige Gruppirungen, Haufen bilden. In solchen Haufen, Fig. 17 C, sieht man bisweilen kleine Ketten, oder auch Tetraden, selbst einmal Packete, aber es fehlt die Regelmässigkeit, meist vermisst man jede characteristische Anordnung. Die Figuren, welche auf diese Weise von der Kokkenform im Gewebe bisweilen gebildet werden

können, hat Ogston[1]) mit Trauben verglichen und deshalb auch von einem besonderen Staphylokokkus gesprochen. Auch bei der Stäbchenform, Fig. 17 D, E, kommt es zu unregelmässigen Gruppirungen, neben denen man bisweilen auch Ansätze zur Fadenbildung findet.

Eine absolute Grenze zwischen den einzelnen Gruppen A bis D ist nicht zu ziehen und theoretisch kann man sie leicht untereinander verknüpfen. Besonders ist die Grenze zwischen den Fäden und den Haufen nicht so scharf, wie man sie früher ziehen wollte. Wenn Fäden sich gliedern, wachsen die Theilstücke bald in derselben Richtung zu parallelen Fäden aus, aber es können sich auch unregelmässigere Anordnungen einstellen. Die einzelnen dieser Verbindungsweisen bezeichnen keine starren Wuchsformen, sondern sind zum Theil in ihrem Entstehen abhängig von Aussenbedingungen und gehen zum Theil unmerklich ineinander über. Ich halte es deshalb beim gegenwärtigen Zustande unserer Kenntnisse für richtiger, die Verbindungsweisen der Einzelzellen in jedem einzelnen Falle ebenso wie die Formen der Einzelzellen zu beschreiben, aber besondere Namen zum vermeiden. Die Bezeichnungen Torula, Leptothrix, Mycothrix, Spirulina, Merismopedia, Sarcina, Streptokokkus, Staphylokokkus führen nur zu Verwirrungen, wenn man sie als Namen für bestimmte Formen oder Formverbände gebraucht, und dies um so mehr, als einzelne dieser Namen immer nebenbei auch als Gattungsnamen gebraucht wurden und in diesem Sinne auch jetzt noch unentbehrlich sind.

Da aber auf der anderen Seite nicht verkannt werden kann, dass der Verbindungsweise der Zellen zu Ketten, Fäden, Tetraden, Packeten eine gewisse Gesetzmässigkeit zukommt, genügt es vollständig, dieselbe in den 4 geschilderten grossen Gruppen zum Ausdrucke zu bringen, weil sich darin die zur Beobachtung kommende Constanz genügend zu erkennen giebt.

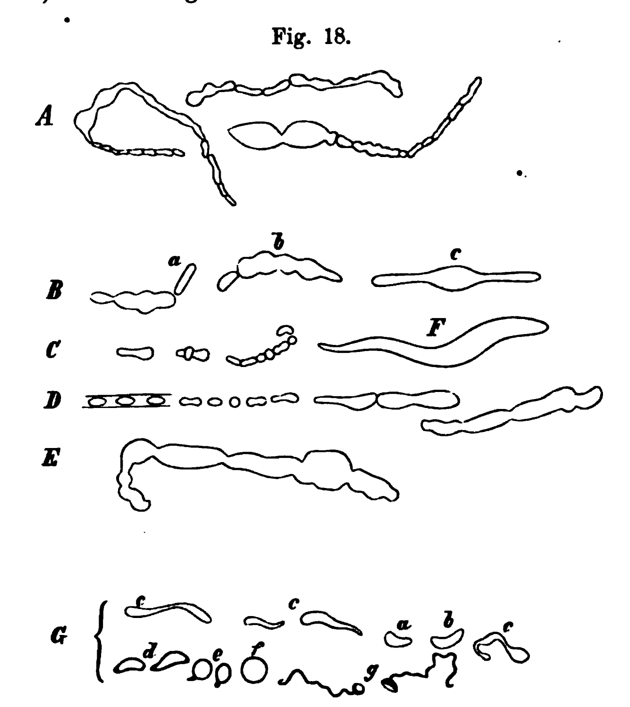
IV. Sowohl bei den Einzelzellen als den Verbänden derselben treten bisweilen Formen auf, welche die Formkreise wesentlich vermehren würden, wenn nicht gute Gründe zur Annahme vorhanden

[1]) Journal of anatomy and physiology, 1882, Bd. XVI, S. 526; Bd. XVII, S. 24.

wären, dass diese Formen pathologische sind, dass sie als **Zerfallsproducte und Degenerationsformen** aufgefasst werden müssen.

Die Fig. 18 zeigt eine Reihe hierher gehöriger Formen, welche verschiedene Gattungen der Bakterien betreffen. A giebt nach Maddox [1]) solche degenerirte Formen von Milchsäurebakterien;

Fig. 18.



B nach Prazmowski von Clostridium polymyxa; C stellt Formen von Bakterium Zopfii nach Kurth: D von Bacillus subtilis und E von Bacillus anthracis nach Buchner; F von Vibrio rugula nach Warming vor und G giebt eine Reihe von van Ermengem und mir bei den Kommabacillen der Cholera asiatica beobachteten sicher degenerirten und entwicklungsunfähigen Formen.

Nach C. E. Hansen [2]) treten bei der Entwicklung des Bakterium aceti neben den ganz kurzcylindrischen, fast ellipsoiden Gliedern in gewissen Entwicklungsstadien ziemlich regelmässig kräftigere

---

1) Journal of the Royal Microscopical Society 1885, Ser. II, Vol. V, S. 205.

2) Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, Bd. 1, 1882 (Heft 2, 1879).

Stäbchen und aufgetriebene Glieder auf. Es ist deshalb nicht unmöglich, dass manches, was auf den ersten Blick den Eindruck einer Rückbildungs- oder Degenerationsform macht, bei einzelnen Arten in die normale Entwicklung hineingehört. Dass manche Formabweichungen, welche bis jetzt noch nicht besprochen sind, bei der normalen Entwicklung vorkommen, wird bei der Fructification noch gezeigt werden und da Hansen seinerseits geneigt ist, etwas Ähnliches bei Bakterium aceti anzunehmen, wird man gut thun aus der Form allein nicht ohne Weiteres auf eine Degenerationsform zu schliessen.

In den von mir genauer untersuchten Fällen, welche Bacillus anthracis, die sogenannten Kommabacillen, und die Bakterien der blauen Milch betreffen, hatten derartige Formen keine weitere Rolle, sondern sie waren wirklich entwicklungsunfähig und wenn aus derartigen Kulturen wieder neue Generationen entstanden, war kein Zweifel, dass Sporen oder einige noch nicht degenerirte Formen dieselben einleiteten.

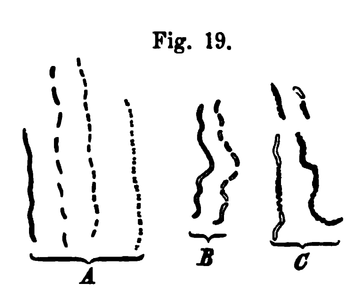
In vielen Fällen ist aber noch eine genauere Prüfung erforderlich, besonders mit Rücksicht darauf, ob das Eintreten von ähnlichen Formabweichungen als Vorbereitung einer besonderen Fructification aufzufassen ist oder ob und inwieweit derartige Formen vielleicht als besondere Gährungsformen zu betrachten sind. Morphologisch sind die zweifellosen Degenerationsformen durch die Tendenz charakterisirt unter Wasseraufnahme und Protoplasmaaustritt zu quellen und dabei, soweit dies die Membran zulässt, Kugelform anzunehmen. Bei den Einzelzellen, Fig. 18 G d, e, f und bei D, ist dies deutlicher als bei den Fäden, bei denen die einzelnen Stücke der Membran oder genauer die Membranen der einzelnen Glieder verschiedene Widerstände bieten, so dass man neben ganz aufgetriebenen auch mehr normale Strecken hat. Da das Eintreten der Kugelform wesentlich auf ein mechanisches Moment, das Quellen durch Wassereintritt, zurückzuführen ist, halte ich es für ganz verfehlt, aus derartigen pathologischen Formen, wie Buchner[1]) es versucht, den Schluss zu stützen, dass die normalen Bakterien und Fäden aus isodiametrischen Gliedern bestehen.

---

[1]) Nägeli, Untersuchungen niederer Pilze 1882, S. 217.

Neben derartigen Degenerationsformen findet sich bisweilen auch ein körniger Zerfall als besondere Form der regressiven Metamorphose. Während Zopf, Fig. 19 A, bei der Entwicklung der Sumpfspirochaete einen regelmässigen typischen Zerfall, erst in längere Stäbchen, dann in kürzere Stäbchen beschreibt, die schliesslich in je zwei kuglige Zellen zerfallen, so dass schliesslich eine Reihe von Kugeln entsteht, von denen je zwei dichter beisammen liegen, hatte ich bei meinen Untersuchungen über die Entwicklung und Gliederung der schraubigen Fäden der Kommabacillen[1]) eine derartige Regelmässigkeit nicht gefunden, sondern nur ermittelt, dass die Fäden, B, bei der spontanen Fragmentirung zum Theil in die einzelnen Schraubenstäbchen zerfallen, zum Theil aber auch noch kleinere Fadenstückchen erhalten bleiben; der Faden zerbrach in keinem Falle erst in längere Glieder, aus deren weiterer, regelmässiger Gliederung erst die Schraubenstäbchen hervorgingen. Bisweilen, C, sah ich aber scheinbar die Gliederung auf kleinere oder grössere Strecken eines Fadens fortschreiten und es bildeten sich Reihen von Körnern, welche mit den Kokkenketten von Zopf grosse Aehnlichkeit hatten, aber abgestorben und entwicklungsunfähig waren. Auch bei Bacillen habe ich eine derartige körnige regressive Metamorphose gesehen. Eine regelmässige Gliederung von Schrauben und Stäbchen in kuglige Glieder, welche er Gonidien nannte, hatte übrigens Cohn bereits 1877 unter Verhältnissen beobachtet, welche nichts mit körniger, regressiver Metamorphose zu thun hatten.

Fig. 19.



Ferner giebt es in der normalen Entwicklung der Bakterien besondere Fructificationsformen und Dauerzellen, welche sich vorwiegend in ähnlicher Form wie Kokken repräsentiren. Damit haben wir Material gewonnen, um zu unterscheiden, was man nun im engeren Sinne Kokkenformen oder Kokken nennen soll. Der bisherige laxe Sprachgebrauch, gegen den ich mich früher schon[2])

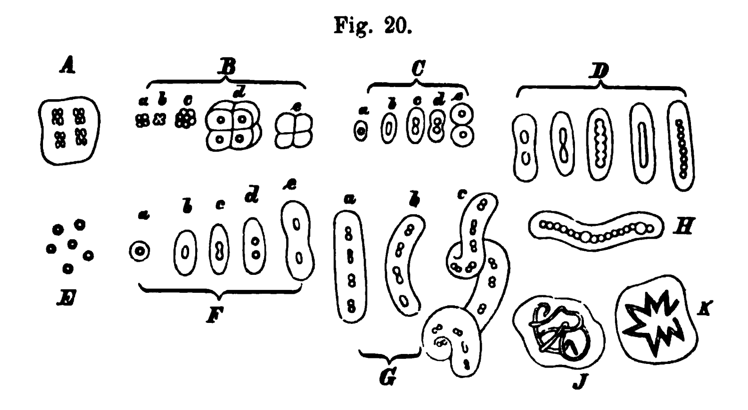
---

1) Fortschritte der Medicin, III, 1885, No. 19.
2) Fortschritte der Medicin, I, 1883, S. 206.

Zopf gegenüber ausgesprochen habe, nennt bei Bakterien jedes kuglige oder ellipsoide Gebilde Kokkus, höchstens mit Ausnahme der endogenen Sporen. Wenn man aber so verfahren will, ist die Confusion ganz unvermeidlich und man kann es dann kaum Jemanden übelnehmen, wenn er die Protoplasmakügelchen der Mastzellen auch Kokken nennen will.

Wir haben von den Kokken streng auszuschliessen alle Fructifications- und Dauerzellen, mögen sie morphologisch noch so ähnlich sein, ferner alle Degenerations- und Zerfallsformen. Die Kokkenform oder der Kokkus ist eine normale, vegetative, direct als solche theilungs- und vermehrungsfähige Form.

Fig. 20.



V. Sowohl die Einzelzellen als die Formverbände derselben können durch die aufquellenden Schichten der Membran zusammengehalten kleinere oder grössere Schleimfamilien, Gallertstöcke, Palmella oder **Zoogloea** bilden (cfr. S. 75). Nach de Bary's [1]) Zusammenfassung stellen dieselben „je nach Species und Kulturform gelatinöse Schichten oder Häute dar, welche die Oberfläche des festen oder flüssigen Substrats bedecken, oder aber, in Flüssigkeit suspendirt, klumpige, nicht selten lappig verzweigte Massen verschiedenartigster Form. Die gallertigen Zellmembranen sind in ihnen entweder in eine homogene Masse zusammengeflossen, oder nach den Einzelzellen und Specialverbänden geschichtet."

---

1) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, 1884, S. 495.

Als besondere Specialverbände trifft man in grösseren Zoogloeen die Fäden, ferner die Tetraden, Fig. 20 A, die Packete, Fig. 20 B; man beobachtet dabei neben diesen Formen auch meist die verschiedenen Uebergangsformen, doch sind im Allgemeinen die Verbände gut ausgesprochen, weil die Zoogloea als eine Ruheform nicht zu schnellen Veränderungen führt. Ein anderer auffallender Specialverband wird durch Askokokkus, Fig. 11 A, repräsentirt. In dieser Zoogloea sind schon makroskopisch kuglige oder ovale Körperchen a, b zu erkennen, welche mikroskopisch aus haufenweise angeordneten Kokkenballen bestehen, welche durch eine resistente Gallerte von fast knorpelartiger Consistenz umgeben und von den anderen Theilen c der Kokkenzoogloea etwas getrennt sind. Bei der Kokkenform von Beggiatoa roseo-persicina bilden sich solide maulbeerförmige Zellanhäufungen, welche oft durch Aufnahme von Wasser zunächst zu Hohlkugeln werden, deren Wand von einer einfachen Schicht kugliger Zellen gebildet wird. Reisst diese Schicht ein, so bilden sich Hohlnetze oder netzförmige Zoogloeen, Fig. 11 B.

Bei einzelnen Bakterien ist die kuglige oder stäbchenförmige Zelle von einer Kapsel, Fig. 20 C, umgeben, welche annähernd die Form zeigt wie die eingeschlossene Zelle. Schon bei derartigen Kapselbildungen erfolgt nicht immer sofort nach der Theilung der Zellen auch eine Theilung der Kapseln, sondern man findet auch längere Kapseln D, welche mehrere Zellen in verschiedene Entwicklungsstadien umschliessen können und gerade in solchen Kapseln sieht man sehr häufig die bereits in Fig. 13 (24—29) schematisch dargestellte Bildung und Auflösung von Pseudostäbchen.

Die Bildung der bei Leuconostoc vorhandenen Zoogloeaform zeigt die Fig. 20 E bis H. Nach van Tieghem[1]) zerreisst erst die äussere Membran der Spore E, dann hebt sich unter starker Vergallertung eine zweite Membran ab, so dass die Zelle bei a von einer Gallerthülle umgeben ist, dann verlängert sich die Zelle, theilt sich, während die Gallerthülle die sämmtlichen Zellen umfasst, so dass sich successive die Formen von F und G bilden. In diesen Gallertmassen sind die Zellen immer in Reihen angeordnet, bald

[1]) Annales des Sciences naturelles, Botanique, T. VII, 1878, S. 191.

wie bei G etwas mehr von einander entfernt, bald wie bei H rosenkranzförmig angeordnet. Benachbarte Gallertschläuche berühren sich, verschmelzen mit einander und es entstehen grosse, knorpelharte, Froschlaich ähnliche Massen, in denen Ketten der Kokkenform eingebettet sind. Erst bei Erschöpfung des Nährbodens nimmt die Consistenz der Zoogloea ab, die Massen zerfliessen und die eingeschlossenen Zellen können wieder frei werden.

Eine ebenso auffallende Zoogloeaform bilden die Kefirkörner[1]). Dieselben stellen höckerige oder warzige, blumenkohlähnliche, weisse Körner von Hirsekorn- bis zu Wallnussgrösse dar, welche von zäher elastisch-praller und in trocknem Zustande von knorpelartiger Consistenz sind. In dieser Zoogloea befinden sich Stäbchenbakterien in Fadenform, Milchsäurebakterien und ein Sprosspilz oder Hefeform vereinigt. An der Form der Zoogloea haben die Stäbchenbakterien den hervorragendsten Antheil, so dass morphologisch die anderen Formen zurücktreten, während biologisch eine hochinteressante Symbiose vorliegt, da keine der Arten ohne die andere die volle Wirkung zu entfalten vermag.

Die in Fig. 20 J und K dargestellte Form einer Zoogloea wurde früher als Gattung Myconostoc beschrieben; bei dem Zerfalle der gewundenen, bisweilen mehr spiralig angeordneten Fäden machen die Zerfallsproducte den Eindruck von bald mehr geraden, bald von deutlichen schraubigen Stäbchen, so dass höchst wahrscheinlich nur eine Zoogloea einer vielleicht pleomorphen Art vorliegt, deren übrige Formen noch nicht sicher bekannt sind. Die Umhüllung der Fäden wird von einer ähnlichen Gallerthülle gebildet wie bei Askokokkus.

Aus diesen Angaben über die wichtigsten Formen der Zoogloea und aus den früheren Mittheilungen über den allgemeinen Formwerth der Zoogloea, S. 83, ergiebt sich, dass die einzelnen Erscheinungsformen der Zoogloea unter einander nur quantitativ unterschieden sind und sich bei genauerem Studium immer mehr Uebergangsformen herausgestellt haben. Das charakteristischste in der Zoogloea ist nicht

---

[1]) Kern, Botanische Zeitung, 1882, S. 264: Hueppe, Deutsche med. Wochenschrift, 1884, No. 48; de Bary, Vorlesungen über Bakterien, 1885, S. 10 und S. 76, kommt zu ähnlichen Anschauungen, wie ich sie l. c. gegeben habe.

die äussere, durch mechanische und chemische Einflüsse in hohem Grade bestimmbare, Erscheinungsform, welche man früher selbst zu Gattungsabgrenzungen für genügend hielt, sondern in erheblich höherem Grade die Anordnung der Zellen in der Zoogloea. Der Werth der Wuchsform Zoogloea deckt sich deshalb im Wesentlichen für Gattungs- und Artbestimmungen mit dem Werthe, welchen die mehr oder weniger charakteristische Verbindungsweise der Einzelzellen zur Gattungs- und Artabgrenzung besitzt. Aus diesem Grunde ist es auch ganz überflüssig und verwirrend die verschiedenen Formen der Zoogloea mit besonderen Namen zu belegen und es widerspricht schon unserem jetzigen Wissen nur nach der Form der Zoogloea noch länger Gattungen wie Askokokkus, Clathrocystis, Leuconostoc, Zoogloea ramigera, Myconostoc aufrecht zu halten.

Kann man mit den bisher betrachteten Formmerkmalen Gattungen und Arten unter den Bakterien unterscheiden? Nägeli hatte eine derartige Möglichkeit principiell geleugnet und Cohn hatte nur seine Cattungen für natürliche gehalten, während er nur nach Formmerkmalen bestimmte Arten als Formarten angesehen wissen wollte. Gegenüber den wenigen Formmerkmalen, welche Cohn berücksichtigen konnte, haben Koch und seine Schüler durch Kultur unter den verschiedensten Bedingungen die Zahl der Formmerkmale erheblich vermehrt und eingehend gezeigt, dass unter Berücksichtigung der auf diese Weise wahrnehmbaren Formeigenthümlichkeiten rein morphologisch in ausgedehnter Weise Differenzen unter den verschiedenen Bakterien zu erkennen sind. Ferner zeigte sich, dass nicht alle Formmerkmale gleichwerthig sind, sondern dass nach meiner Auffassung die Einzelformen in ihrer eigenthümlichen Constanz unter gleichbleibenden Bedingungen, in der Breite der Variabilität bei geänderten Bedingungen, auf primäre Artunterschiede der Bakterien hinweisen. Von den anderen Formen schien mir wieder die Verbindungsweise der einzelnen Zellen ein relativ constantes Merkmal, wenn man das Entwicklungsstadium berücksichtigt, während ich für wirkliche Artbestimmungen die Zoogloea an sich als zu inconstant betrachten musste. Aus früher schon dargelegten Gründen hat sich trotzdem aber die Form der Zoogloea gerade zur schnellen Orientirung und Differentialdiagnose als besonders werthvoll

herausgestellt, wobei allerdings nicht zu übersehen ist, dass bei der Zoogloea die Form der Einzelzellen und ihrer Verbände immer gleichzeitig mit berücksichtigt wird.

Wenn man aber auch alle Wuchsformen der Einzelzellen und ihre Verbände unter gleichbleibenden und unter variirten Bedingungen berücksichtigt, so vermag man doch nur eine Summe von specifischen Merkmalen anzugeben, welche zunächst nur zur Abgrenzung von Formarten genügt. Da aber mit Zunahme der Zahl der Formmerkmale unter denselben auch mit grösserer Wahrscheinlichkeit primäre Formmerkmale erwartet werden dürfen, werden auf diese Weise kenntlich gemachte Formarten den ächten Arten auf jeden Fall näher kommen als es bei den Formarten der Fall sein konnte, wie sie Cohn 1872 provisorisch abzugrenzen versuchte.

Aber darüber darf man sich trotz aller Fortschritte im Einzelnen nicht täuschen, dass im Princip diese Artbestimmung dieselbe ist, wie Cohn und Schröter sie bereits 1872 durchgeführt haben, als sie alle ihnen bekannten Formmerkmale zur Bestimmung von Gattungen und Arten erforderlich erklärten.

X.

Fructification der Bakterien.

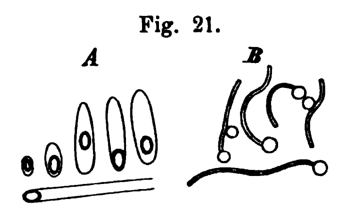
Zum endgültigen Beweise, dass eine durch die Summe ihrer bekannten Wuchsformen bestimmte Art nicht nur wahrscheinlich, sondern wirklich eine ächte naturhistorische Art ist, gehört die Kenntniss der Fructification, welche erst das Wissen über die Wuchsformen und die Entwicklung wissenschaftlich abschliesst.

Die erste Angabe von Sporen bei Organismen, welche zu den Bakterien gerechnet wurden, verdankt man Perty.[1]) Die Gattung Sporonema, welche er aufstellte, soll nach ihm im Gegensatze zu

[1]) Zur Kenntniss kleinster Lebensformen, 1852, S. 181.

den meist deutlich gegliederten Fäden der Gattung Metallacter (Bacillus), cylindrische, ungegliederte, scheinbar hohle Fäden besitzen und „der Faden schliesst an einem Ende (selten an beiden) ein, manchmal auch zwei elliptische Körperchen (wohl Sporen) ein". Die elliptischen Sporen, Fig. 21 A, sind meist etwas kleiner als die Zelle: „es giebt solche, wo die Spore breiter ist als der Faden, daher diesen etwas auseinander treibt". Aehnliche Gebilde, welche er allerdings nicht ausdrücklich als Sporen beschreibt, aber in auffallend ähnlicher Weise, Fig. 21 B, zeichnet, wie Prazmowski später die Sporen von Vibrio rugula, Fig. 22 G d, finden sich bei einer als Spirillum undula beschriebenen Art.

Fig. 21.



Das Verdienst, diese Gebilde von Neuem aufgefunden und ihre Bedeutung im Wesentlichen erkannt und experimentell sicher gestellt zu haben, gebührt Pasteur.[1]) Bei seinen Untersuchungen über die Krankheiten der Seidenwürmer beobachtete er 1865 in den Bakterien Körperchen, welche stärker lichtbrechend waren als der Rest des Bakterienkörpers, und die er deshalb auch mit Kernen verglich. Diese Körperchen waren aber auch widerstandsfähiger als die Vibrionen selbst, so dass Pasteur die Bildung der Körperchen als eine Art Parthenogenesis der Vibrionen bezeichnete. Was Pasteur entgangen war, war der Nachweis, dass diese Körperchen auch wirklich auskeimen können, also auch morphologisch ächte Sporen sind.

Schon 1824 hatte Bory de St. Vincent die Beobachtung gemacht, dass todter „Vibrio Bacillus" in einer verstöpselten Flasche sich sehr lange am Boden unverändert erhält. Aehnliche Beobachtungen über die Bildung eines resistenten Bodensatzes deutete Cohn[2]) dahin, dass die Bakterien beim Uebergang in den Ruhezustand schwerer als Wasser werden, „was wohl mit der Bildung von Dauerzellen und Verdichtung des Plasma in denselben zusammenhängen

[1]) Études sur la maladie des vers à soie, 1870, I, S. 168, 228, 256.
[2]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, I, Heft 2, 1872, S. 144.

mag". Direct beobachtete Cohn erst 1876[1]) die Bildung von glänzenden, sporenähnlichen, in den zu Fäden verbundenen, aber auch in isolirten Gliedern von Bacillus subtilis derart, dass die Spore die Höhle des Gliedes „nicht ganz ausfüllt, sondern von der leeren Zellhaut beiderseits umgeben ist". Die Berechtigung, diese Gebilde als Dauerzellen aufzufassen, erwies er noch etwas genauer als Pasteur dadurch, dass dieselben durch die Siedehitze des kochenden Wassers erst nach längerer Zeit vernichtet wurden. Die Berechtigung, dieselben als Sporen aufzufassen, bewies Cohn auch morphologisch durch ihre Keimfähigkeit. Hiermit war zum ersten Male trotz mancher noch bestehen gebliebener Unsicherheiten in Einzelheiten die Entwicklung einer Bakterienart von Spore zu Spore nachgewiesen. Durch die Experimente von Pasteur und Cohn, durch die morphologischen Beobachtungen von Perty, Pasteur und Cohn und vor Allem durch den directen Nachweis der Keimfähigkeit durch Cohn war zweifellos sicher gestellt, dass bei einzelnen Bakterien eine ächte Fructification vorkommt.

Unmittelbar darauf gelang Koch[2]) derselbe Nachweis für den Bacillus anthracis und Salomonsen[3]) machte die kurze Angabe vom Auftreten von Dauerzellen bei Kettenkokken in faulendem Blut: „Man findet dann in den Ketten Glieder von genau demselben Aussehen, wie die bei gewissen Bakterien und Bacillus beobachteten „Dauersporen", wie diese zeichnen sie sich durch starke Lichtbrechung aus und bei einer gewissen Einstellung tritt die charakteristische rothgelbe Farbe hervor. Sie treten nicht mit bestimmten Zwischenräumen auf, sondern finden sich ganz unregelmässig zwischen die unveränderten Glieder eingestreut, bald vereinzelt, bald zwei, drei oder mehrere aneinander gereiht, ja bisweilen unterliegen fast alle Glieder der Kette der genannten Metamorphose und die unveränderten Glieder — die nach und nach ganz zu verwelken scheinen — sind in entschiedener Minorität; das letztere Verhältniss habe ich nur gefunden, wenn das Blut längere Zeit bei hoher Temperatur (40° C.) hingestellt war."

1) ibid. II, Heft 2, 1876, S. 263.
2) ibid. II, Heft 2, 1876, S. 277.
3) Botanische Zeitung, 1876, S. 620, Anmerkung.

Im folgenden Jahre bestätigten Pasteur und Joubert[1]) in höchst anerkennender Form die Entdeckung Koch's von der Bildung der Sporen bei Bacillus anthracis und Pasteur giebt bei dieser Gelegenheit (l. c., Bd. 85, S. 103) auf Grund seiner früheren und neuen Beobachtungen eine charakteristische Darstellung der Frage, bei der ihn ausschliesslich der physiologische Standpunkt interessirte. Er findet in der Sporenbildung „une mode de génération des vibrions qui avait passé inaperçu et dont l'importance physiologisque grandit chaque jour. Il consiste essentiellement dans une formation de corpuscules, qu'on peut appeler kystes, spores ou conidies, suivant le point de vue où l'on se place pour la classification du genre vibrionien. Je me servirai volontiers de l'expression de corpuscules brillants, qui rapelle un caractère fréquent dans ces sortes de germes et qui frappe l'attention de l'observateur, ou celle de corpuscules-germes, qui rapelle leur fonction physiologique."

Diese einseitige physiologische Auffassung, welche die correcte Darstellung der morphologischen Seite als etwas ganz Nebensächliches hinstellt, ist später auch in Deutschland unter den Aerzten sehr beliebt geworden, so dass man im Allgemeinen sich daran gewöhnte, bei der Dauerform die Dauer einseitig zu betonen und die Form fast unberücksichtigt zu lassen. In dieser einseitigen Betonung der Dauer liegt aber ein Grund zu vielen Missverständnissen, da dieselbe nur bei den Experimenten über Generatio spontanea und Desinfection in so auffallendem Maasse in den Vordergrund tritt. Der biologische Werth der Dauerform liegt aber viel weniger in der Resistenz gegen so extreme Eingriffe, wie Siedehitze und viele Chemikalien im Experimente sie darstellen, als darin, dass, wie ich ausführte,[2]) die Dauerform „die Erhaltung der Art unter den natürlichen Verhältnissen ihres Vorkommens sicher, sicherer wenigstens als die vegetativen Zellen gewährleistet".

Dass eine beträchtliche Resistenz gegen manche experimentelle Eingriffe vorhanden sein kann ohne Bildung besonderer Dauerzellen,

---

1) Comptes rendus, 1877, Bd. 84, No. 18, Bd. 85, No. 3.

2) Fortschritte der Medicin, III, 1885, No. 19 und deutsche med. Wochenschrift, 1885, S. 758.

zeigte Miquel[1]) und besonders van Tieghem,[2]) welche eine Bacillusart beschrieben, welche in neutraler Lösung bei 74° wächst und Sporen bildet und deren vegetative Zellen erst bei 77° erliegen. Eine Mikrokokkenart wächst nach Miquel[3]) in nicht neutralisirter Bouillon noch bei 88 und in neutralisirter Bouillon selbst noch zwischen 91 und 93°. Duclaux giebt sogar an,[4]) dass die vegetativen Zellen einer Clostridiumart, welche er Tyrothrix tenuis nennt, in neutralen Lösungen erst zwischen 90 und 95° absterben, in schwach alkalischen aber selbst über 100° ertragen, und die vegetativen Zellen von Tyrothrix filiformis sollen in Milch gleichfalls 100° ertragen, während die Sporen dieser Arten erst zwischen 110 und 120° getödtet werden.

Wenn man mit diesen Angaben, welche allerdings nur Ausnahmen darstellen, vergleicht, dass nach Brefeld[5]) zur Tödtung der Dauersporen von Bacillus subtilis die 3stündige Einwirkung der Siedetemperatur des Wassers oder die Wärme des Oelbades von 105° 1/4 Stunde, von 107° 10 Minuten, von 110° 5 Minuten erforderlich ist und dass nach Fitz[6]) die Dauersporen von Bacillus butylicus „je nach dem Alter und der Qualität der Sporen und je nach dem Medium" bei der Siedetemperatur des Wassers in 3 bis 20 Minuten, bei 95° zwischen 2 und 6 Stunden, bei 80° zwischen 7 und 11 Stunden erliegen, ja dass andere endogene Sporen, wie die der Bakterien der blauen Milch, noch leichter erliegen, so wird eine gewisse Reserve gegen eine einseitige Betonung der Dauer wohl am Platze sein.

Mag auch in den angeführten Temperaturangaben manche Einzelheit nur für die bestimmte Versuchsanordnung gelten, mag auch bei den hohen Temperaturen von Duclaux eine absolut sichere Trennung der vegetativen Zellen von Sporen nicht vorhanden gewesen sein, so geht das Eine doch zweifellos aus diesen Beobachtungen her-

---

1) Annuaire de l'observatoire de Montsouris pour l'an 1881 u. 1885, S. 574.
2) Bulletin de la Société Botanique de France, Tome 28, 1881, S. 35.
3) Les Organismes vivants de l'atmosphère, 1883, S. 148 und 183.
4) Annales de l'Institut National Agronomique, 1882, S. 22.
5) Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, IV, 1881, S. 51.
6) Bericht der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 15, 1882, S. 870.

vor, dass zwischen den am wenigsten und den am meisten widerstandsfähigen vegetativen Zellen und den resistentesten Dauersporen ganz allmähliche Uebergänge vorkommen. Die Desinfectionspraxis muss fortwährend darauf bedacht sein, Mittel und Methoden aufzufinden, welche den schwierigsten Verhältnissen genügen. Neben dieser praktischen Angabe erfordert die wissenschaftliche Lösung der Frage der Dauerformen aber von Fall zu Fall, für jede Art gesondert die besondere Resistenz der Dauerform unbekümmert um die extreme Resistenz der Dauerzellen einzelner Arten zu prüfen. Bei einer solchen Prüfung ist die morphologische Lösung der Frage, die Ermittelung der besonderen Fructificationsform, ebenso wichtig wie die experimentelle Ermittelung des Grades und der besonderen Richtung der Widerstandsfähigkeit gegen natürliche, die Art bedrohende, und gegen besondere experimentelle Eingriffe.

In morphologischer Hinsicht ermittelte zunächst van Tieghem die Fructification von Bakterien der verschiedensten Gattungen, bei denen dieselbe noch nicht bekannt war. Bei den Ketten der Kokkenform von Leuconostoc[1]) fand er, wie er meinte als Erster bei einer derartigen Form, dass sich einzelne der kugligen Zellen, Fig. 20 H, Fig. 23 G, a, d, am Ende oder regellos im Verlaufe der Kette vergrössern unter Erhaltung der Kugelgestalt, und „dans chaque d'elles il se forme une spore“, Fig. 23 G, b, c. Dieser Wortlaut sowohl als die wiederholte Betonung dieser Beobachtung lassen es sicher erscheinen, dass van Tieghem diese Sporen zuerst für morphologisch identisch mit der Sporenbildung bei Bacillen gehalten hat. Uebrigens sollen sich nicht in allen vergrösserten, als Cellules sporifères bezeichneten kugligen Zellen Sporen bilden, sondern einzelne derselben können sich auch einfach als vergrösserte Zellen erhalten. Dann beobachtet van Tieghem[2]) bei einer starren Schraubenbakterie, welche der Form nach zu Cohn's Gattung Spirillum gehörte, und welche in gewissen Entwicklungsstadien Amylumkörner enthielt, die Bildung von Sporen. Die Einzelglieder bildeten

[1]) Sur la gomme de Sucrerie. Annales des Sciences Naturelles. Botanique. T. VII, 1878, S. 150.

[2]) Développement du Spirillum amyliferum. Bulletin de la Société Botanique de France, 1879, T. 26, S. 65.

eine Windung, wie es Figur 22 H, a andeutet; nach Erreichung von 2 Schraubengängen, wie bei b, trat Theilung ein. In jedem Einzelgliede bildete sich eine Spore, und bei einer Schraube von 2 Touren fanden sich 2 Sporen, welche bald gleich gerichtet, bald an den entgegengesetzten Enden lagen. Diese Sporen, welche ungefähr den Durchmesser der Spirille besassen, keimten derart, dass sich der kurze anfangs gerade Keimschlauch krümmte, einen und dann zwei Schraubengänge bildete, worauf die Theilung eintrat. Die erste Sporenbildung bei Schraubenbakterien ist demnach bei einer Art beobachtet, welche der Form nach als Spirillum bezeichnet wurde. Weiter fand aber van Tieghem[1]) auch bei einer beweglichen Schraubenbakterie von 5 bis 8 Windungen, welche keine deutliche Gliederung erkennen liess, Sporenbildung unter Auftreten einer Gliederung derart, dass sich auf eine Windung, wie in Figur 22 H, g, 4 kurze Glieder bildeten. In jedem solchen Gliede bildete sich eine Spore, so dass sich bei 8 Windungen 32 Sporen fanden. Auch bei Vibrio serpens, der nach Cohn sogar besser zu Spirillum gestellt wird und eine Art Mittelstellung einnimmt, fand van Tieghem die letztgeschilderte Art der Sporenbildung.

In höchst unklarer Weise geben Geddes und Ewart[2]) eine Beschreibung der Sporenbildung und Auskeimung von Spirillum undula; die frei gewordenen, in einem Faden gebildeten Sporen kapseln sich ein, die Kapseln theilen und vermehren sich, die Sporulae schlüpfen aus, keimen in Kommaform, welche zum Spirillum auswächst. Auch für die Gattung Mikrobakteria wurde von Ewart[3]) die Beobachtung der Sporenbildung für Bakterium termo behauptet, doch handelte es sich um irgend eine nicht genauer bestimmte Bacillusart.

Van Tieghem[4]) fand zwei chlorophyllführende Bakterien, deren eine, welche in Kurzstäbchen vorkam, Bakterium viride, deren

---

[1]) Sur les spores de quelques bactéries, ibid. S. 141.

[2]) Proceedings of the Roy. Soc. Vol. XXIV, 1878, S. 481.

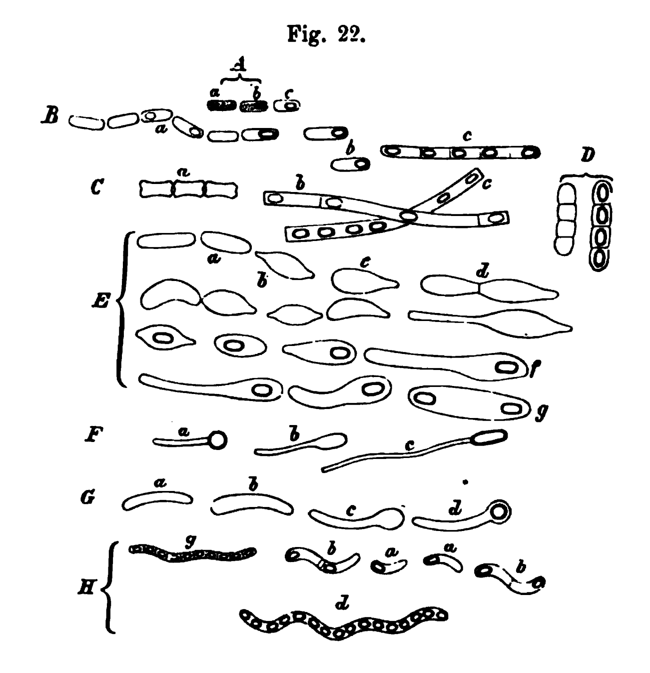
[3]) ibid., S. 474.

[4]) Observations sur les bactériacées vertes. Bulletin etc. 1880, T. 27, S. 174.

andere, welche in Langstäbchen auftrat, Bacillus virens genannt wurde. Den Bacillus virens war van Tieghem geneigt mit Perty's Sporonema für identisch zu halten. Beide Arten zeigten dieselbe Sporenbildung wie die chlorophyllfreien ächten Bacillen.

Prazmowski[1]) machte zuerst auf Differenzen in der Sporenbildung der Stäbchenformen aufmerksam. Bei einzelnen Arten, Bacillus im engeren Sinne, änderte sich die Form des Stäbchens

Fig. 22.



nicht wesentlich, Fig. 22 B, bei anderen, Clostridium, dagegen änderten die Zellen erst ihre Gestalt, erfuhren an einer Stelle eine Auftreibung, und die Spore bildete sich in einer erweiterten Zelle, Fig. 22 E. Auch für die den Schraubenbakterien nahe stehende Gattung Vibrio machte er eine ähnliche Beobachtung. Die gekrümmten Einzelzellen, Fig. 22 G, a, verdicken sich gleichmässig (b) unter Auftreten feiner Granulationen im Inhalt. „Nach einiger

---

[1]) Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten, 1880.

Zeit (l. c. S. 43) tritt an dem einen Ende des verdickten Stäbchens eine kuglige Anschwellung zum Vorschein; das Stäbchen sieht dann, c, einem Komma ahnlich. In der kugligen Endanschwellung sammelt sich nach und nach der gesammte Inhalt des Stäbchens und gestaltet sich (d) schliesslich zu einer ebenfalls kugligen Spore."

Bis zum Jahre 1880 waren demnach scheinbar zweifellos bei allen Gattungen der Bakterien, wie sie Cohn 1872 aufgestellt hat, im Innern der Zellen gebildete, endogene Sporen nachgewiesen. Die Wichtigkeit dieser Ermittelungen, welche in dem Nachweise einer identischen Fructification gipfeln, benützte zuerst van Tieghem, um die Bakterien gegen die übrigen Spaltpflanzen abzugrenzen.

Van Tieghem entwickelte zunächst allgemein die Ansicht, dass im Gegensatze zu der bis dahin herrschenden Ansicht, welche in der Bezeichnung Spaltpilze einen Ausdruck gefunden hatte, die Anwesenheit von Chlorophyll durchaus kein Grund sei, um Mikroorganismen nur wegen dieses Umstandes von den Bakterien auszuschliessen. Seine beiden chlorophyllführenden Arten gehörten sicher zu den Bakterien, weil sie dieselben Formen, aber auch dieselbe Fructification besitzen, wie ähnliche chlorophyllfreie Formen oder Arten. Nach van Tieghem darf man nur die Sporenbildung zur Trennung der Bakterien von den Spaltalgen benutzen, aber nicht den Mangel an Chlorophyll. Unter den Bakterien giebt es chlorophyllfreie und chlorophyllführende Arten; aber das Chlorophyll ist rein, während es bei den blaugrünen Spaltalgen mit Phycocyanin gemischt ist. Die Fructification soll aber nach seiner Auffassung durchaus verschieden und deshalb ausschlaggebend sein.[1]) „Dans les Oscilarinées, ce sont de simples cellules végétatives qui transforment un peu leur contenu tout entier, qui épaissent un peu et transforment leur membrane, et voilà tout: le resultat donne des cellules durables bien plutôt que des spores. Dans les Bactériacées, au contraire, ce sont des corps spéciaux de formation endogène, trés différents par leur forme et l'ensemble

[1]) Bulletin de la Société Botanique de France, 1880, T. 27, S. 173.

de leur propriétés des cellules végétatives qui les produisent dans leur sein, et qui disparaissent en les mettent en liberté, ce sont, en un mot, de véritables spores."

Später legte van Tieghem [1]) diese Anschauung noch einmal dar. Er schied die Spaltpflanzen, welche nach ihm als Cyanophycées die I. Ordnung der Algen bilden, nach der Fructification in zwei grosse Gruppen. Der erste Tribus, Nostocacées, war durch die Bildung von Cysten abgegrenzt, gegen den zweiten Tribus, Bactériacées, welche endogene Sporen bilden. Die Cysten sind gewöhnliche Zellen des Thallus, welche sich vergrössern, die Farbe ändern, ihre Membran verdichten und dadurch in den Ruhe- und Dauerzustand treten. Beim Auskeimen nimmt das Protoplasma der Cyste seine ursprüngliche Farbe wieder an, theilt sich wieder in derselben Richtung wie zur Zeit als es Theil des Thallus war, zerreisst dabei die äussere Membran und verlängert sich zu einem neuen Thallus, der entweder Fäden oder flächenartige Schichten oder Massive von körperlich angeordneten Zellen darstellt.

Die endogenen Sporen der Bakterien dagegen bilden sich einzeln in je einer Zelle durch theilweise Anhäufung des Inhalts und bekleiden sich mit einer Membran, werden latent und können wieder frei werden und auskeimen durch Resorption der primitiven Membran.

Diese einfachen, klaren Unterscheidungen zwischen Cysten und endogenen Sporen müssen aber wohl doch zu einer Abgrenzung nicht ganz genügen, denn van Tieghem zählt z. B. nach dieser Auffassung Beggiatoa nicht zu den Bakterien, sondern zu den Cysten bildenden Nostocaceen, während er Crenothrix und Cladothrix, trotzdem deren Fructification durchaus keine Berechtigung dazu giebt, zu den endogene Sporen bildenden Bakterien rechnet. Leuconostoc dagegen, dessen Sporen er früher wiederholt als endogen gebildet hingestellt hatte, bringt er nicht mehr unter den Bakterien, sondern unter den Nostocaceen, so dass er die Sporen nicht mehr als endogene, sondern als einfache Cysten auffasst.

Von den übrigen Botanikern hatte keiner versucht trotz der principiellen Bedeutung der Fructification bei der Systematik der-

[1]) Traité de Botanique, 1884. S. 1103.

selben Rechnung zu tragen. Der Hauptgrund war wohl der, dass die Fructification bei zu wenig Arten erst beobachtet war, während bei der weitem überwiegenden Mehrzahl der Bakterien nur die Wuchsformen und selbst diese nur zum Theil bekannt waren. Die meisten zogen es deshalb vor, die systematische Gruppirung der Bakterien nur nach den Formen durchzuführen und nebenbei anzugeben, bei welchen der auf diese Weise bestimmten Bakterien Sporenbildung beobachtet war. In dieser Weise verfuhr Cohn und im Anschlusse an ihn Rabenhorst-Winter und Frank; cfr. S. 34.

Auch Zopf, welcher sich wiederholt sehr entschieden gegen das System von Cohn ausspricht, machte nicht einmal einen Versuch die Fructification zu würdigen. Trotz aller Angaben von den Fortschritten seines Systems bewegt sich dieses System principiell in derselben Bahn wie das von Cohn, indem er nur nach den Formen eintheilte. Zopf theilte 1883 in der ersten Auflage seines Werkes über die Spaltpilze die Bakterien in 4 Gruppen:

1. Kokkaceen: besitzen nur Kokken und durch Aneinanderreihen von Kokken auch Fadenform.
2. Bakteriaceen: bilden Kokken, Kurzstäbchen, Langstäbchen und Fäden, welche keinen Gegensatz von Basis und Spitze zeigen.
3. Leptothricheen: bilden Kokken, Stäbchen, Fäden, welche einen Gegensatz von Basis und Spitze zeigen, und Schraubenformen.
4. Cladothricheen: bilden Kokken, Stäbchen, Schrauben, Fäden, welche Verzweigung zeigen.

Bei dieser ersten Gruppirung hatte Zopf, 1883, beherrscht von der „Theorie der Wandelbarkeit der Formen nach dem Substrat" nur die wirklich oder angeblich pleomorphen Arten berücksichtigt, während die monomorphen oder relativ einförmigen Arten anhangsweise behandelt waren. In der 3. Auflage seines Werkes, 1885, dagegen versuchte er alle Arten, soweit sie bekannt waren, nach ihren Formen zu berücksichtigen. Auf diese Weise kommt es, dass bei gleichgebliebenen Namen der 4 Hauptgruppen nur die 3. und 4. Gruppe

Leptothricheen und Cladothricheen 1885 noch dieselben Bakterienarten umschliessen, wie 1883. Die Kokkaceen umfassten 1883 nur Leuconostoc, während 1885 die Gruppe Kokkoceen die Gattungen Streptokokkus, Mikrokokkus, Askokokkus, Merismopedia, Sarcine umfasst und Leuconostoc ausschliesst. Die Abgrenzung der Gattungen ist fast dieselbe geworden wie bei Cohn's gleichnamigen Gattungen.

Die Gruppe Bakteriaceen umschloss 1883 Cohn's Gattungen Bakterien und Bacillus, unterschied aber die Gattungen in Bakterien und Clostridium. Die gleichgenannte Gruppe wurde dagegen 1885 in die Genera: Bakterium, Spirillum, Vibrio, Leuconostoc, Bacillus, Clostridium aufgelöst und die Abgrenzung wurde fast dieselbe, wie sie Cohn zum Theil schon 1872 durchgeführt hatte.

Diese Gattungen von Zopf sind ebensosehr oder ebensowenig ächte Gattungen oder nur Formgattungen wie die von Cohn, wenn auch Zopf manche Berichtigungen in Einzelheiten und Erweiterungen durch die Aufnahme der Leptothricheen und Cladothricheen, aber auch manche Unrichtigkeiten durch übertriebene Berücksichtigung des Pleomorphismus brachte. Zur Abgrenzung der Gattungen ist die Fructification principiell nicht verwerthet, sondern sie findet bei den Gattungen und Arten mit einer einzigen Ausnahme nur eine ganz nebensächliche Berücksichtigung, aber keine principielle Würdigung.

Wenn bei den bisher betrachteten Gattungs- und Artabgrenzungen von Fructification die Rede war, so wurde sowohl von den Forschern, welche wie Prazmowski und van Tieghem derselben die erste Stelle zugewiesen wissen wollten, als von denen, welche vorläufig die Formen zur Bestimmung für wichtiger hielten und der Fructification einstweilen bei der Classification nur eine Nebenrolle zuerkannten, wie Cohn, Winter, Frank, Zopf, unter Fructification ausschliesslich die Bildung endogener Sporen verstanden.

Rechnete man Crenothrix zu den Bakterien, so hätten sowohl van Tieghem als Zopf noch auf eine andere Fructification achten müssen, welche morphologisch und physiologisch eine ächte Fructification ist und eine besondere Dauerform liefert. Bei dieser Art

hatten zuerst Cohn[1]) und später Zopf[2]) die Bildung von Gonidien und zwar sogar von zwei Formen derselben, Makro- und Mikro-Gonidien, Fig. 23 A bis E, erkannt. Zopf nahm sich später[3]) selbst die Möglichkeit diese Fructification richtig zu würdigen. Er beobachtete, dass bei Crenothrix, Cladothrix, Beggiatoa beim Zerfalle der Fäden, Schrauben und Stäbchen schliesslich kuglige Zellen resultirten, welche im Stande waren neue Generationen einzuleiten. Aber er nannte alle kuglige Zellen, um den Pleomorphismus dieser Arten recht deutlich zu machen, Mikrokokken resp. Makrokokken und hatte damit ein drastisches Beispiel gewonnen für die Zusammengehörigkeit aller Formen, für die Uebergangsfähigkeit aller Formen in einander oder, wie er es bezeichnete, dafür, dass die Formen Mikrokokkus, Bakterium, Bacillus, Vibrio, Spirillum etc. „blosse Entwicklungszustände von Spaltpilzen" sind.

Den Zerfall der stäbchenförmigen Glieder in kuglige Gebilde ermittelte auch Giard[4]), bei Crenothrix aber ohne in den kugligen Zellen Mikrokokken zu sehen. Die gerade bei Crenothrix recht deutliche Differenz von Basis und Spitze, Fig. 23 C, E, lässt ihn die Sache so auffassen, wie sie früher von Cohn und anfangs auch von Zopf dargestellt war; die kugligen Zellen sind „microgonidies, formées dans les sporanges ou extrémités renflées des tubes de Crenothrix, par division transversales des articles bacillaires qui constituent ces extrémités."

Derartige Erwägungen liessen mich gegen Zopf's Auffassung erklären[5]): „Während ich also gern zugebe, dass die von Zopf als Mikrokokken beschriebenen Gebilde wirklich sehr kleine Kugeln sind, muss ich entschieden bestreiten, dass sie ausser der kugligen Gestalt etwas mit dem gemein haben, was man bisher Mikrokokken nannte, und kann sie nur als gonidienartige Bildungen, als Sporen anerkennen."

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, II. Heft 3, S. 108.

[2]) Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über Crenothrix polyspora 1879.

[3]) Zur Morphologie der Spaltpflanzen 1882.

[4]) Sur le Crenothrix Kühniana. Comptes rendus 1882, Bd, 95, No. 5.

[5]) Fortschritte der Medicin I., 1883, S. 206.

Dieser Sporenbildung durch scheinbar einfachen Zerfall von stäbchenförmigen Zellen stellte ich aber sofort die Bildung der endogenen Sporen in den Stäbchen gegenüber. Während Zopf das Langstäbchen nicht als nur bacillusähnlich, sondern geradezu als Bacillus beschrieb, stellte ich auf Grund der Untersuchungen von Cohn und Prazmowski die Forderung, dass zum Begriffe Bacillus „der stricte Nachweis der Sporenbildung in diesen Stäbchen" gehört. Weiter gab ich sehr bestimmt an, dass das Vorkommen von schraubigen Fäden bei anderen Bakterien über die Schraubenbakterien im engeren Sinne direct nichts aussagt, sondern dass nur die unmittelbare Untersuchung derartiger Bakterien den Werth der Schraubenformen für diesen Fall festzustellen hat.

Bei aller Kürze glaube ich damals einige für die Systematik wichtige Punkte genügend präcise entwickelt und in nuce mitgetheilt zu haben. Diese Punkte sind: dass der entwicklungsgeschichtliche Werth der Formen in verschiedenen Fällen ein durchaus verschiedener sein kann; der Werth einer kugeligen Zelle in der Entwicklung von Bakterien ist nicht immer derselbe, ebenso kann die Stäbchenform und die Schraubenform verschiedene Dignität besitzen. Neben den Formen ist zur Beurtheilung die Fructification von einschneidender Bedeutung und in dieser Hinsicht sind bei den den Formen nach zu den Bakterien gehörigen Spaltpflanzen zwei ganz verschiedene Vorgänge auseinander zu halten, die Bildung der einfachen Sporen oder gonidienähnlichen Bildungen und die der endogenen Sporen. Ferner gestattet gerade der Modus der Fructification oft erst die richtige Beurtheilung der Formen, indem z. B. in dem angezogenen Beispiele für die Systematik ein Stäbchen, in dem sich eine Spore bilden kann, auf anderen Ursprung hinweist als ein Stäbchen, in dem niemals etwas Aehnliches vorkommt.

Bald darauf fand Kurth[1]), dass bei dem Bakterium Zopfii die Kurzstäbchen, Fig. 23, F, a, b, in „Kokken" (c) zerfallen, welche

[1]) Botanische Zeitung, 1883, S. 412.

aber nicht mit den Dauersporen verglichen werden könnten. Für Kurth giebt es eben nur die eine Form von Dauersporen, die endogenen Sporen. Aber Kurth ermittelte, und darin liegt gegenüber der einseitigen Auffassung von Zopf ein Fortschritt, dass physiologisch diese „Kokken" doch einen höheren Werth besitzen als andere Kokken. Nach seiner Darstellung „müssen die Kokken des Bakterium Zopfii als ein Ruhezustand bezeichnet werden, der unter ungünstigen Verhältnissen das Leben der Art länger zu erhalten vermag als der vegetative Zustand, die Kurzstäbchen." Den Grund für die grössere Resistenz der Kokken sieht Kurth in einer Veränderung der Membran. Kurth findet schliesslich, dass, wenn auch keine besonderen morphologischen Unterschiede dieser von anderen Kokken sich auffinden lassen, „in der physiologischen Deutung des Kokkenzustandes" für diesen Fall eine „wesentlich andere Auffassung Platz greifen muss". Diese andere Auffassung kann aber nur die bereits vorher von mir entwickelte sein, dass man neben den endogenen Sporen den Begriff der einfachen Sporen oder gonidienähnlichen Bildungen als einer besonderen Form der Fructification und der Dauerzellen anerkennt.

Fast gleichzeitig kam de Bary[1]) zu einer ähnlichen, aber noch mehr verallgemeinerten und im Einzelnen zum Theil genauer präcisirten Anschauung. Auch de Bary schied nicht die Bakterien auf Grund der Bildung von endogenen Sporen von den übrigen Spaltpflanzen, sondern schied die der Form nach als Bakterien zusammengefassten Spaltpflanzen selbst nach dem Modus der Fructification und dem Entwicklungsgange in 2 grosse Gruppen: „Erstens nämlich die Arten mit endogener Sporenbildung: endospore, und zweitens jene ohne dieselbe: arthro- spore Bakterien". Bei den letzteren „können sich einzelne Glieder einfach aus den Verbänden lostrennen und unter geeigneten Bedingungen die Initialen neuer Verbände werden, haben daher auf den Namen Sporen Anspruch. Im Uebrigen findet zwischen ihnen und den vegetativen Gliedern ein allgemein characteristischer Unterschied nicht statt.

[1]) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, 1884, S. 496. Vorlesungen über Bakterien, 1885.

Im Zusammenhang mit der Thatsache, dass die hierher gehörigen Arten theils weniger untereinander conform sind als die endosporen, theils die einzelnen eine grössere Mannichfaltigkeit der Wuchsformen besitzen, ist die Bildung der Zellen, welche als Sporen bezeichnet werden können, nach den Arten im Einzelnen sehr ungleich.

Die Gliedersporen oder Arthrosporen von de Bary umfassen als der allgemeinere Begriff auch die von mir als einfache Sporen, gonidienähnliche Bildungen, wenigstens morphologisch etwas charakterisirten Dauerformen. Die sehr weite Definition von de Bary lässt die Möglichkeit zu, dass unter Umständen jede der Wuchsformen

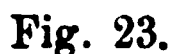
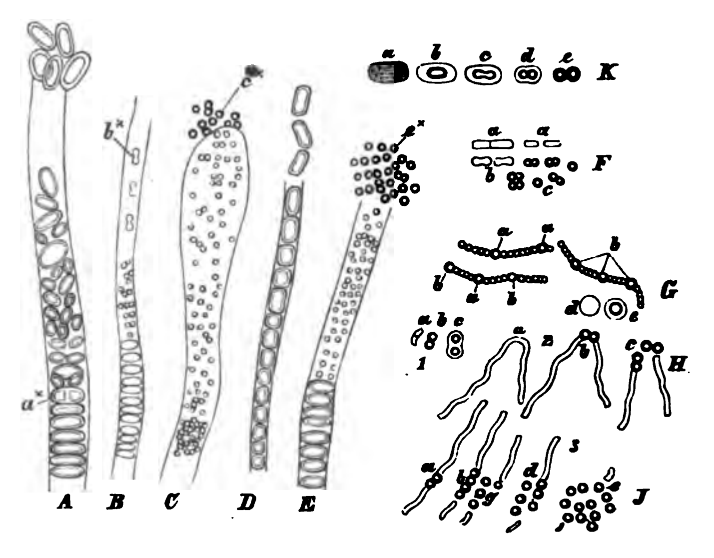


Fig. 23.



der Einzelzellen nach den Gattungen und Arten, bald Kokken, bald Stäbchen, bald Schraubenstäbchen als ein solches Glied, aber auch als Gliederspore auftreten kann, vorausgesetzt dass diesen Gliedern eine gewisse und grössere Dauer zukommt als den nur vegetativen Formen, dass sie also die Art sicherer zu erhalten vermögen als die letzteren. Nach den bisher bekannten Thatsachen spricht aber Manches dafür, dass die Bakterien, welche keine endogenen Sporen bilden, einen Dauerzustand nicht in jeder beliebigen Form finden, sondern vorwiegend in der Kokkenform. Nur diese Form überstand

Eingriffe, welche die vegetativen Zellen vernichteten. Für die Leptothricheen nnd Cladothricheen ist dies nachgewiesen und so auffallend, dass man bei Crenothrix schon lange diese Zellen nach Cohn als Gonidien bezeichnete. Für die von Kurth beschriebene Art, deren vegetative Zellen in der Stäbchenform sich abspielen, ist nur für kuglige Zellen der Werth als Dauerform ermittelt. Für bestimmte Schraubenstäbchen habe ich ganz Aehnliches ermittelt,[1]) indem ich fand, dass zum Theil die Einzelzellen, Fig. 23 H, 1a, zum Theil die entsprechenden Glieder der schraubigen Fäden, H 2 und 3a, der sogenannten Kommabacillen sich in je zwei stärker lichtbrechende Kügelchen, H 1b und c, 2b und c, 3a bis e, gliedern, welche gegen Austrocknen resistenter sind als die vegetativen Zellen. Aehnliche Mittheilung haben Finkler und Prior[2]) über kuglige Dauerformen bei ihren Kommabakterien gemacht.

Auch bei der Kokkenform, bei der die Frage am schwierigsten liegt insofern, als zwischen verschiedenen Kügelchen eine Differenz schwerer zu erkennen ist, sind nachgewiesene Dauerformen nur in Kugelgestalt bekannt. Die Bildung der Sporen, Fig. 23 G, b und e, in den erweiterten kugligen Zellen, a und d, bei Leuconostoc, wird von van Tieghem selbst jetzt als Bildung von Cysten und nicht von endogenen Sporen, d. h. nach de Bary's Bezeichnung von Arthrosporen, aufgefasst.

Ich acceptire im Folgenden die Bezeichnung Arthrosporen von de Bary einmal, weil sie kurz und gut einen Gegensatz gegen die endogenen Sporen ausdrückt, dann, weil die als Dauerform ermittelten nicht endogenen Sporen sich wirklich wie Einzelzellen oder Glieder eines Verbandes darstellen. Aber ich mache auf Grund der bisherigen Beobachtungen die Einschränkung, dass die Arthrosporen wahrscheinlich nicht in jeder beliebigen Form der Einzelzellen, sondern wohl immer in Kokkenform auftreten.

Diejenigen noch ungenügend bekannten Bakterien, bei denen keine bestimmte Dauerform nachgewiesen ist, rechne ich aus prak-

[1]) Fortschritte der Medicin. III. 1885, No. 19.

[2]) Forschungen über Cholerabakterien. Ergänzungshefte zum Centralblatt für allgemeine Gesundheitspflege, I, 1885, S. 399.

tischen Gründen mit de Bary gleichfalls zu den arthrosporen Bakterien. Ist keine besondere Dauerform bekannt, so ist die Möglichkeit nicht absolut von der Hand zu weisen, dass bei solchen Arten vielleicht die vegetative Form der Art, bald Kokken, bald Stäbchen, bald Schraubenstäbchen oder ein bestimmter Verband derselben zu Fäden oder Zoogloea, im Stande ist die Art zu erhalten. Aber die Wahrscheinlichkeit spricht dafür, dass in derartigen Fällen bei genauerem Studium sich eine morphologisch bestimmte Dauerform, eine endogene Spore oder Arthrospore in dem oben eingeschränkten Sinne finden wird.

Die Bildung der Arthrosporen, die meist deutliche Zunahme der Lichtbrechung deuten darauf hin, dass eine Contraction der Protoplasma wahrscheinlich mit im Spiele ist. Bei einer nicht genauer bestimmten Art, welche fast dieselben Wuchsformen zeigte wie Kurt's Bakterium Zopfii, vollzog sich bei einer directen Beobachtung die Bildung in folgender Weise, Fig. 23 K; das Protoplasma der Kurzstäbchen (a) wurde körnig, zog sich (b) zu einem stark lichtbrechenden Ellipsoid zusammen, dieses schnürte sich (c) ein, es entstanden (d) zwei stark lichtbrechende Kügelchen, welche sich (e) schnell etwas von einander entfernten. Diese kugligen Arthrosporen waren von einer deutlichen Membran umgeben, welche nach aussen von einem Lichthofe, wohl von einer Gallerthülle herrührend, umgeben war. Aehnlich scheint die Bildung bei dem Bakterium Zopfii, F, und bei Leuconostoc, G, zu sein. Bei den Kommabacillen H und J spricht hierfür, dass die Anfangs näher zusammenliegenden Arthrosporen (a) später (3g und e) etwas weiter auseinanderrücken. Tritt diese Kugelbildung an vielen Gliedern ein, so bilden sich Anhäufungen, Zoogloeen der Arthrosporen, Fig. 23 C, c×; E, e ; F, c; J, e, indem die Gallerthüllen der Membran etwas aufquellen.

Billet[1]) beschreibt die Bildung der Arthrosporen von Cladothrix dichotoma in der Weise, dass sich der Inhalt eines Kurzstäbchens zu einem runden Körper contrahirt, den er mit einem Zellkerne vergleicht; dieser Kern streckt sich dann zur Ellipse, diese schnürt

[1]) Sur la formation et la germination des spores chez le Cladothrix dichotoma. Comptes rendus, 1885, Bd. 100, S. 1251.

sich bisquitförmig ein und aus der Theilung resultiren schliesslich nach erfolgter Theilung der Membran zwei Zellen mit je einem Kerne. Die kernhaltige Zelle ist die „cellule sporifère“, der Kern selbst ist nichts anderes als die Spore.

Nach den bisherigen Beobachtungen scheint demnach die Bildung der Arthrosporen mit einer Contraction des Protoplasma zu beginnen und mit einer Theilung in zwei Körperchen aus contrahirtem Protoplasma zu endigen. Die Schutzhülle der Arthrospore scheint dagegen nichts weiter zu sein als die getheilte Membran der Mutterzelle. Wahrscheinlich wird aber von dem contrahirten Protoplasma, der eigentlichen Spore, eine innere Sporenhaut gebildet, um welche sich erst die getheilte Membran der Mutterzelle als äussere Sporenhaut anlegt, so dass man sich wohl am richtigsten die Arthrospore, wie Figur 23 G, e und K, e, vorstellt.

Dass die als Kokken beschriebenen Arthrosporen sich durch manche Eigenthümlichkeiten von den vegetativen Kokkenformen unterscheiden, beobachtete Kurth. Diese Kokken sind theilungsunfähig und können sich nicht als solche vermehren, wohl aber können sie erst nach längerem Latenzstadium wieder keimen und zu einem Stäbchen auswachsen, Fig. 24 D. Die „Kokken“ vermehren sich nur scheinbar, indem sie sich aus einem stärkeren Zerfalle der Stäbchen, Fig. 23 F, b, bilden und am Orte des Zerfalls der Stäbchen anhäufen. Zopf hatte wegen der Zunahme der „Kokken“, wie sie z. B. Figur 23 C bei $c^{\times}$ und E bei $e^{\times}$ schliesslich zu einer „Kokkenzoogloea“ führt, geschlossen, dass es sich bei Cladothrix, Crenothrix, Beggiatoa um eine directe Vermehrung in der Kokkenform handelte. Kurth machte dem gegenüber darauf aufmerksam, dass man auch in diesen Fällen die Uebergangsglieder — z. B. Fig. 23 B $b^{\times}$ bei den Mikrogonidien und A $a^{\times}$ auch bei den Makrogonidien — wohl nie vermisse, welche die Vermehrung der „Kokken“ in ähnlicher Weise auf einen stärkeren Zerfall von nachgeschobenen Kurzstäbchen zurückführen lasse. Zopf[1]) hält dem gegenüber an der übrigens auch schon früher von Cohn angedeuteten Ansicht fest, „dass

[1]) Die Spaltpilze, 3. Aufl., 1885, S. 20.

die Gonidien anderer Spaltpilze, wie die von Crenothrix, die Fähigkeit fortgesetzter Theilung besitzen", ohne dass aber die bis jetzt bekannt gemachten Angaben eine sichere Entscheidung in diesem Sinne gewähren. Ebenso ist die Frage der Schwärmfähigkeit der „Kokken" noch nicht für alle Fälle gelöst. Dass die „Kokken" resp. Gonidien von Crenothrix schwärmfähig sind, haben Zopf und Giard beobachtet; es würde sich also möglicherweise um die Bildung von Schwärmsporen handeln können. Kurth glaubt nach seinen Beobachtungen an Bakterium Zopfii die Sache anders auffassen zu müssen; bei dieser Art sind die fertigen „Kokken", Fig. 23 F, c und Fig. 24 D, a, nicht schwärmfähig, wohl aber die unmittelbar vorausgehenden Uebergangsformen, Fig. 23 F, b, und andererseits auch die kürzesten Stäbchen beim Auskeimen, Fig. 24 D, b. Die Arthrosporen der Kommabacillen vermehrten sich nicht durch Theilung und waren unbeweglich.

Cohn[1]) hatte bereits 1877 beobachtet, dass kurze Spirillenglieder in humor aqueus in Fäden auswuchsen, oder wie er es bezeichnete, dass „Streptothrix aus Vibrio serpens nach 24 Stunden herangewachsen" war. In den langen Spiralen trat perlschnurartige Gliederung ein, wie sie bei den ächten Kettenkokken als Torulaform oder Streptokokkus bekannt ist. Diese Gonidien, als welche Cohn damals diese kugeligen Glieder auffasste und bezeichnete, waren keine besondere Dauerform, sondern würden mehr dem entsprechen, was Zopf als Gliederung von Schrauben und Stäbchen in Mikrokokken bezeichnete. Wie weit es sich bei dieser Gliederung um einen Zerfall von Stäbchen in theilungsfähige, kuglige Zellen handelt, ist noch nicht definitiv entschieden, doch weist Cohn diese Möglichkeit durchaus nicht von der Hand. Gonidien im damaligen Sinne von Cohn würden fast genau dem entsprechen, was Zopf als Mikrokokken beim Zerfall von Stäbchen und Schrauben bezeichnet und sich nur zum Theil mit den Arthrosporen im Sinne von de Bary decken.

Etwas abweichend von der Gliederung von Fäden und Schrauben, wie sie von Cohn, Zopf und mir beobachtet wurde, beschreibt

---

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen Bd. I, Heft 2.

Neisser[1]) einen der Gliederung bei Crenothrix oder Phragmidiothrix ähnlichen Theilungsmodus bei den endosporen Bacillen der Xerosis conjunctivae, dessen Theilglieder von Cohn als eine Art Gonidienbildung erklärt wurde, so dass in diesem Falle zwei Fructificationsvorgänge, durch Endosporen und durch Gonidien s. Arthrosporen, nebeneinander vorkommen würden, also eine Pleomorphie der Fructificationsorgane wie bei manchen Pilzen vorliegen könnte.

„Dieser Modus besteht darin, dass der einzelne Bacillus zu einer langen 6—8- und mehrgliedrigen Kette von immer breiter werdenden scheibenartigen Theilen auswächst. Das letzte Glied — je nachdem das Auswachsen an einem oder an beiden Enden erfolgt — an einem oder beiden Enden der Reihe ist von birnförmiger Gestalt und ist in allen Durchmessern mindestens doppelt so gross als das schmale, dem ursprünglichen Bacillus entsprechende Anfangsglied. Die dazwischen gelegenen Glieder stellen allmähliche Uebergangsformen dar; sie sind stets, wie schon erwähnt, breiter als lang, so dass ein ganzes derartiges Gebilde den Eindruck einer Keule macht. welche in schmale Scheiben zerschnitten ist. Anfangs liegen diese schmalen Theilglieder dicht an einander gepresst; allmählich rücken sie auseinander und jedes einzelne kleine Theilglied wächst wieder zu einem neuen Bacillus aus. Die Wachsthumsrichtung dieser Theilglieder steht aber senkrecht auf derjenigen, in welcher sich der einzelne Bacillus zu der beschriebenen keulenförmigen Kette ausbildete. Daher kommt es denn auch, dass man keine langen Reihen aus hinter einander gelagerten einzelnen Bacillen findet, sondern mehr oder weniger zu grossen Quadraten vereinigte Haufen der einzelnen Theilglieder."

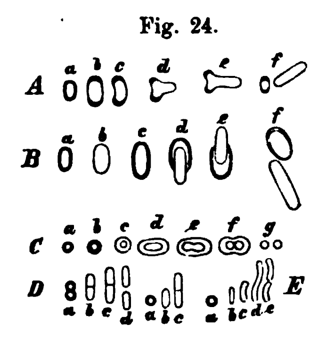
Es handelt sich bei dem Auftreten von kugligen Zellen in der Entwicklung von Fäden, Schrauben oder Stäbchen, also möglicherweise um physiologisch differente Dinge, indem bei einzelnen Arten oder Gattungen vielleicht alle diese Glieder eine Ruhe- und Dauerform darstellen, also Gliedersporen in dem angeführten Sinne sind,

[1]) Kuschbert und Neisser, Breslauer ärztliche Zeitschrift 1883, No. 4' Deutsche med. Wochenschrift 1884, No. 21.

während bei anderen Gattungen vielleicht ein Zerfall in theilungsfähige Kokken eintritt und nur bestimmte dieser kugligen Zellen oder Glieder eine Dauerform darstellen. Sollten sich diese Möglichkeiten welche nach den Angaben von Cohn und Zopf vorläufig bestehen, als sicher herausstellen, so würde man für die Zukunft Missverständnissen wohl am besten aus dem Wege gehen, wenn man die so entstehenden sicheren Dauerformen Arthrosporen nennt, während man die sich theilenden Kugeln nicht als Gonidien bezeichnet, weil man im Allgemeinen mit diesem Namen den Begriff der Fructification und des Dauerzustandes, aber nicht den eines vegetativen Stadiums verbindet, sondern als Kokken, in dem früher S. 93 und S. 109 bezeichneten Sinne.

Mit diesen Unsicherheiten und theilweisen Widersprüchen sind aber die Schwierigkeiten über Gonidien, einfache Sporen, Arthrosporen noch keineswegs erschöpft. Bei den höchsten Bakterienarten, Beggiatoa roseo-persicina sowohl als Crenothrix, hat man, Fig. 23 A und D, die Bildung grösserer ellipsoider oder kugliger Zellen beobachtet, welche vielleicht eine Fructificationsform herstellen und demnach als Makrogonidien bezeichnet wurden. Im Einzelnen ist die Bedeutung dieser Gebilde noch höchst unklar, wenn auch ein genetischer Zusammenhang mit den riesigen Monasformen, Fig. 14 A bis E, Fig. 15 G bis M, nicht unmöglich ist; doch kommen aufder anderen Seite auch alle möglichen Uebergangsformen, z. B. Fig. 23 A a$^{\times}$, von den Makrogonidien zu den Mikrogonidien oder Arthrosporen vor.

Fig. 24.



Ueber die Auskeimung der Arthrosporen ist nicht viel Genaues bekannt. Nach van Tieghem geht dieselbe bei Leuconostoc, Fig. 24 C, derart vor sich, dass die äusserste Membran unregelmässig einreisst, dann eine mittlere Membran aufquillt, so dass die Spore mit ihrer innersten Sporenhaut von einer Gallerthülle umgeben ist, (a bis c), dann streckt sich die Spore und theilt sich wie ein gewöhnlicher Kokkus (d bis g). Beim Bakterium Zopfii D streckt sich unter Abnahme des Brechungsvermögens die Arthro-

spore a, wird zum Kurzstäbchen, welches in Theilung eingeht (b bis d). Bei den Arthrosporen der Kommabacillen E streckte sich unter Verminderung des Brechungsvermögens die kugelige Zelle zu einem Stäbchen (b), welches sich schraubig krümmte (c), zu einem S-förmigen schraubigen Faden (d) heranwuchs und sich dann (e) theilte. Einzelheiten vermochte ich nicht festzustellen.

Viel einheitlicher und in den Grundzügen klarer liegen die morphologischen Verhältnisse bei den endogenen Sporen, Fig. 22. Bei der Bildung der endogenen Sporen machen sich, wie schon angedeutet, nur wenige Differenzen bemerkbar. Bei einzelnen Arten ändern die Zellen die Form nicht oder doch nicht deutlich, Fig. 22, B, C, D, H, während bei anderen die Zellen eine entschiedene Formveränderung erfahren, E, F, G, dabei besteht wieder die Möglichkeit, dass die Zelle vor der Sporenbildung sich in allen Dimensionen etwas vergrössert und dass in den vergrösserten Zellen die Sporenbildung bei Erhaltung dieser Form vor sich geht oder dass in der vergrösserten Zelle noch eine weitere Formveränderung durch Erweiterung an einer Stelle eintritt.

Cohn hatte bei seiner ersten Mittheilung der directen Beobachtung der Sporenbildung und Auskeimung[1]) schon ermittelt dass bei Bacillus subtilis sich in jedem Gliede nur eine Spore bildet. In dem vorher homogenen Inhalt bildet sich zunächst ein stark lichtbrechendes Körperchen und „aus jedem dieser Körperchen entsteht eine oblonge oder kurz cylindrische, stark lichtbrechende dunkel contourirte Spore“. Bei der Keimung schwellen die Sporen „etwas an und treiben an einem Ende einen kurzen Keimschlauch, sie erschienen nun als Köpfchenbakterien“.

Koch[2]) gab dann weiter an, dass die stark lichtbrechende, eiförmige Spore in „eine kuglige glashelle Masse eingebettet ist, welche wie ein heller schmaler, die Spore umgebender Ring aussieht.“ Bei der Keimung bleibt nun nach Koch der glänzende Körper zunächst unverändert, dagegen streckt sich die kuglige protoplasmatische Hülle, wird eiförmig und enthält an einem Pole noch

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, II, Heft 2, 1876, S. 264.
[2]) ibid. S. 289.

die Spore; dann wird die Hülle länger, fadenförmig und die Spore verliert ihren Glanz und wird blasser und kleiner. Koch meinte demnach, dass die Spore „aus einem Oel besteht, welches von einer dünnen Protoplasmaschicht eingehüllt ist. Letztere ist die eigentliche entwicklungsfähige Zellsubstanz, während ersteres vielleicht einen bei der Keimung zu verbrauchenden Reservestoff bildet."

Gegen diese Auffassung des Vorganges machte Klein[1]) geltend, dass die nachgewiesene Resistenz gegen Hitze undenkbar sei, wenn eine äussere Protoplasmaschicht das wesentliche an der Spore sei, im Gegentheil müsse das neue Stäbchen aus dem Inhalt der Spore hervorgehen. Bei directer Beobachtung in der feuchten Kammer hatten Prazmowski[2]) und Brefeld[3]) die Keimung bei den Sporen von Bacillus subtilis ermittelt und direct gezeigt, dass das neue Stäbchen aus dem Inhalt und nicht aus der Umhüllung der Spore hervorgeht. Uebereinstimmend ermittelten beide, dass die Spore aus contrahirtem und deshalb stärker lichtbrechendem Protoplasma und nicht aus Fett besteht und dass die Spore von einer zweischichtigen Membran, welche also aus Endospor und Exospor zusammengesetzt ist, umgeben ist. Koch's Protoplasmahülle hielt Prazmowski für einen optischen Lichthof, ähnlich dem Lichthofe stark brechender Fetttröpfchen, während Brefeld und Ewart denselben für eine Gallerthülle erklärten. Diese Gallerthülle wächst beim Auskeimen nicht aus, sondern wird unter Aufquellen unsichtbar. Das Exospor reisst an einer Stelle ein oder wird an einer Stelle resorbirt, der contrahirte protoplasmatische Inhalt streckt sich zu einem Stäbchen, welches aus dem Risse oder der Oeffnung des Exospore austritt.

Im Allgemeinen vollzieht sich die Bildung der Spore derart, Fig. 22 A, dass der bis dahin homogene Inhalt trübe, und bei den grösseren Formen deutlich körnig (a) wird; dann sammelt sich der körnige Inhalt an einer Stelle mehr und mehr an, so dass ein immer grösser werdendes kugliges oder elliptisches, stark lichtbrechendes

[1]) Quarterly Journal of Microscopical Science 1878, S. 176.

[2]) Botanische Zeitung 1877 und Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterien-Arten 1880.

[3]) Botanische Zeitung 1878 und Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze IV, 1881.

Körperchen (b) entsteht. Wenn dieses Körperchen die definitive Grösse der Spore erreicht hat, bildet sich die Sporenhaut aus und die fertige Spore (c) erscheint in der Regel in einem wasserhellen Raume zu liegen oder richtiger wohl in einer wenig lichtbrechenden Substanz eingebettet zu sein. Auf jeden Fall findet eine ziemlich weitgehende Differenzirung des Protoplasma statt, da es schon in sehr frühen Stadien gelingt, die Sporen in einer anderen Farbe zu färben als den übrigen Theil der Zelle. Diese Differenzirung[1]) wird in dem Maasse deutlicher, als die Membran deutlicher wird und ist besonders bei ganz frei gewordenen Sporen gut zu beobachten. Man findet dann ganz gleichmässig roth oder blau gefärbte Sporen, während bei anderen die Membran intensiver gefärbt ist als der Inhalt und selbst die leeren Membranen noch etwas von dieser Färbung zeigen. Die Sporenfärbung wird durch die resistente Membran begünstigt, aber nicht allein durch dieselbe bedingt; Inhalt und Membran der endogenen Sporen zeigen bei der Färbung nur quantitative Differenzen. Wenn ich diese Erfahrungen über Sporenfärbung mit den directen Beobachtungen vergleiche, scheint mir die Bildung der endogenen Spore derart vor sich zu gehen, dass das Protoplasma der Zelle sich differenzirt, indem zunächst scheinbar geradeso wie bei der Zelltheilung die chromogene Substanz sich von einer nicht färbenden wasserklaren in Körnern trennt. Aber nicht die ganze chromogene Substanz tritt in die Bildung der Spore ein, sondern im Gegensatze zur einfachen Zelltheilung nur ein bestimmter Theil, wodurch mikrochemisch eine Differenz gegenüber der einfachen Zelltheilung gegeben ist. Die Membran der Spore wird nach ihrer Reaction zu urtheilen von derselben Substanz gebildet wie die Spore selbst, und ist deshalb wohl nichts weiter als ein Product der Spore selbst.

Länger als die in der Sporenfärbung sich kundgebende mikrochemische Differenz ist durch van Tieghem bei Clostridium butyricum und Spirillum amyliferum bei der Sporenbildung eine andere chemische Differenzirung bekannt. Bei diesen Arten zeigt das Protoplasma vor der Sporenbildung Granulose-Reaction, doch bildet sich die Spore in einem granulosefreien Raume.

---

[1]) cfr. meine Methoden der Bakterienforschung 1. und 2. Aufl. 1885, S. 56; 3. Aufl. 1886, S. 85.

In einer Zelle bildet sich, wie Cohn von Anfang an richtig erkannt hatte, nur eine Spore und Fälle, in denen in einer Zelle mehrere Sporen vorkommen, z. B. Fig. 22 E, g, sind nur scheinbare Ausnahmen, weil es sich dabei, je nach der Auffassung, nur um verfrühte Sporenbildung oder um verspätetes Auftreten der Membran resp. Deutlichwerden der Gliederung handelt. Dass die Einzelglieder der Bakterien nicht isodiametrische sein müssen, zeigt sich bei der Sporenbildung recht deutlich, und selbst Buchner muss zugeben, dass bei der Sporenbildung ausgesprochene Langstäbchen häufig vorkommen. Die Sporenbildung stellt sich bei der Mehrzahl der Zellen ein, doch bleiben einzelne Zellen immer frei und selbst eine beginnende Sporenbildung kann wieder rückgängig werden. Der Grund der Sporenbildung liegt in der Regel sehr deutlich in einer Erschöpfung des Nährmaterials, wodurch die weitere Existenz der vegetativen Zellen unmöglich wird und bei den Ausnahmen, in denen z. B. bei Clostridium butyricum neben Sporen-bildenden Zellen vegetative sich finden. ist vielleicht doch eine partielle Erschöpfung des Nahrmaterials an der Sporenbildung betheiligt.

Beim Keimen der endogenen Sporen, Fig. 24 A, B, a, nimmt zunächst das Volumen der Spore unter Verminderung der Lichtbrechung etwas zu (b), dann stellt sich an einer Stelle eine Ausstülpung ein, welche nichts weiter ist als das hervorsprossende Stäbchen. Prazmowski und Brefeld hatten zunächst für Bacillus subtilis, A, beobachtet, dass das neue Stäbchen A (d, e, f) senkrecht zur Längsachse der Spore austritt und Prazmowski beobachtet, dass bei Clostridium butyricum die Keimung in derselben Richtung erfolgt wie die Längsachse der Spore B (d, e, f). Damit war die Kenntniss von zwei verschiedenen Formen der Sporen-Keimung gewonnen, wodurch der Vorgang für die Artbestimmung von einschneidender Bedeutung wurde, wie dies schon früher kurz angedeutet wurde S. 66. Prazmowski fand[1]), dass die Sporenbildung und Sporenauskeimung schlechthin constante Formmerkmale sind, welche sich bei Aenderungen der Aussenverhältnisse nicht ändern.

[1]) Biologisches Centralblatt 1884, No. 13.

Die Form der Sporen ist für die verschiedenen Arten constant, das Temperaturoptimum für Bildung und Auskeimung der Sporen bleibt sehr gleichmässig, noch mehr gilt dies vom Temperaturminimum; während z. B. das Minimum der Sporenbildung für Bacillus subtilis nach Brefeld bei ca. 10° liegt, liegt dasselbe für die Milzbrandbacillen nach Koch bei 15° und auch die abgeschwächten Milzbrandbacillen halten dieses Minimum nach meinen Beobachtungen fest, wodurch sich eine weitere Differenz gegen Bacillus subtilis ergiebt.

Sicher ist, dass der Einriss oder die Resorption der Membran bei verschiedenen Arten an verschiedener Stelle der Spore erfolgt. In Folge dessen scheint das neue Stäbchen bald in der Richtung der Achse, bald senkrecht zur selben auszutreten. De Bary hält dies aber nur für eine scheinbare Kreuzung der Wachsthumsrichtung. In Wirklichkeit keimt das Stäbchen auch bei Bacillus subtilis nach seiner Auffassung[1]) in der Längsrichtung der Spore, nur wird es durch den seitlichen Riss zu einer Schwenkung von 90° genöthigt, die es bei seiner nachgiebigen Membran meist ausführen kann, aber bisweilen, wenn die Enden zu fest sitzen, nicht auszuführen im Stande ist.

Nach de Bary scheint die Frage, ob bei Kokkenformen endogene Sporen vorkommen, negativ entschieden, besonders auch nachdem van Tieghem die Sporen von Leuconostoc nur noch für Cysten hält. Aus allgemein morphologischen Erwägungen scheint es mir aber gut, über diese Frage noch nicht vollständig verneinend abzuurtheilen. Einerseits ist eine scharfe Grenze zwischen Kokken, Stäbchen und Spindelstäbchen nicht zu ziehen und andererseits ist die Beurtheilung der Entstehung einer kugligen Spore in einer Kokkenform so schwierig, dass selbst, wenn sie vorhanden ist, sie vielleicht nur wie eine Arthrosporenbildung aussieht. Der mit Hülfe von Sporenfärbungen vielleicht zu führende, bis jetzt allerdings noch ausstehende Nachweis der Bildung von endogenen Sporen in Kokkenformen, würde eine bis jetzt gar nicht zu überbrückende Kluft zwischen den endogenen und arthrosporen Bakterien als weniger einschneidend hinstellen. Schon nach den bisherigen Beobachtungen

[1]) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze 1884, S. 505.

bin ich geneigt, die Differenz zwischen den endogenen Sporen und Arthrosporen für etwas geringer zu halten.

Der Beginn der Bildung der ächten endogenen Spore, Fig. 22, A, und der Beginn der Arthrospore, Fig. 23, K, weist ein gleiches Moment auf, die Contraction des Inhalts. so dass sich nach dieser Richtung der auskeimende Theil derselben, der Inhalt der endogenen Spore morphologisch mit dem Inhalt der Arthrospore vergleichen lässt. Würde sich bei bestimmten Kokkenformen eine endogene Sporenbildung finden derart, dass ein verhältnissmässig grösserer Theil oder der ganze Inhalt zur endogenen Spore wird, so würde eine solche endogene Spore eine vermittelnde Stellung zwischen dem nur contrahirten Protoplasma der Arthrospore und der noch weiter differenzirten endogenen Spore der Stäbchen und Schrauben einnehmen, bei denen nur ein Theil des Inhalts in die Bildung der endogenen Spore eintritt. Die endogene Spore der Stäbchen würde sich dann herleiten lassen aus arthrosporen Formen, und die Bildung der resistenten Membran der endogenen Spore würde nur als eine besondere Anpassungserscheinung aufzufassen sein. Vorläufig haben sich noch keine Thatsachen ermitteln lassen, welche über derartige Fragen irgend ein positives Urtheil gestatten und unser dürftiges Wissen über diese Dinge ist am allerwenigsten ein Grund, diese theoretischen Erwägungen ohne Weiteres von der Hand zu weisen, welche bei etwaiger Realisirung dieses dunkle Gebiet mit einem Schlage wentlich klären würden.

XI.

Gattungen der Bakterien.

Will man versuchen, aus den bis jetzt bekannten Thatsachen eine Eintheilung der Bakterien in natürliche Gattungen und Arten herzuleiten, so kann dies nur in dem Sinne möglich sein, dass die Fructification in erste Linie gestellt wird. In disser Hinsicht scheiden sich nach dem gegenwärtigen Stande unseres Wissens die Bakterien in zwei grosse Gruppen. Die erste Gruppe umfasst die Arten mit Bildung endogener Sporen; die andere umfasst alle

übrigen und enthält darunter einmal die Arten mit nachgewiesener Bildung von Arthrosporen und dann Formarten, deren etwaige Fructification noch unbekannt ist. Bei den letzteren kann nur der endgültige Nachweis der besonderen Fructificationsform über die definitive Stellung entscheiden.

Da bei den meisten Arten die Fructification noch unbekannt ist und deshalb die Aufstellung von Formarten noch nicht ganz umgangen werden kann, wird sich auch bei den Gattungen eine scharfe Abgrenzung von natürlichen Gattungen nicht immer ermöglichen lassen. Bei der Abgrenzung nach der Form muss den constanten Formen die grössere Wichtigkeit beigelegt werden und in dieser Hinsicht ist mit der Beobachtung zu rechnen, dass wesentlich drei Gruppen von vegetativen Zellen in Frage kommen. Von den Verbänden derselben ist die Verbindungsweise der Einzelzellen wieder wichtiger als die Form der Zoogloea.

A. Bakterien mit Bildung endogener Sporen.

1. Gattung Kokkaceen? Die Frage, ob es endospore Kokkaceen giebt, ist aus den oben mitgetheilten Gründen als eine offene zu betrachten. Die Angaben von Salomonsen und van Tieghem würden darauf hindeuten, dass es sich um Arten handelt, deren vegetative Zellen durch die Kokkenformen gebildet werden und bei denen als Verband der Einzelzellen Ketten vorkommen. Ein genaueres Studium der Sporen hat erst darüber zu entscheiden, ob sich bei diesen Bakterien vielleicht die Untergattungen

1) Streptokokkus?
2) Leuconostoc?

als hierher gehörig erweisen. Wenn ich Leuconostoc nur den Werth einer Untergattung, ja vielleicht nur den einer ächten Art zuweisen kann, so liegt dies darin, dass das auffallendste Merkmal, die mächtige Zoogloea, ein an sich schwankendes Formmerkmal betrifft, während die Anordnung der Kokken in den Ketten und die Bildung der Sporen in den Ketten genau so ist wie nach Salomonsen bei anderen kettenbildenden Arten von Kokkaceen.

II. Genus Bakteriaceen. Die vegetativen Zellen sind Stäbchen im weitesten Sinne des Wortes. Die Länge der

Stäbchen ist nach Arten und Entwicklungsstadien verschieden und die kleinsten Theilungsprodukte sind manchmal schwer von den Kokkenformen zu trennen. Ferner ist es als offene Frage anzusehen, ob die Stäbchen sich unter besonderen Umständen in kuglige Zellen gliedern können, so dass das Aussehen einer perlschnurartigen Kette vorkommt, wie sie Cohn bei Stäbchen und Schrauben als Gonidienbildung, Zopf als Mikrokokkenbildung bezeichnet. Die vegetativen Stäbchen bilden in gewissen Entwicklungsstadien kürzere oder längere Fäden, aus denen schliesslich Zoogloeen hervorgehen, in denen die Einzelzellen und Fadenfragmente bald regelmässiger, bald unregelmässiger angeordnet sind. Die Fäden sind bald starr, bald wellig gebogen und können gelegentlich Schleifen und Umschlingungen bilden. Die Sporen bilden sich in den isolirten oder zu Fäden verbundenen Einzelzellen der Stäbchenform.

Untergattungen.

1) Bacillus. Die Einzelstäbchen ändern vor und während der Sporenbildung ihre Gestalt nicht oder doch nicht deutlich. Fig. 22, B, C, D.

2) Clostridium. Die Einzelstäbchen sind bei manchen Arten schon an und für sich Spindelstäbchen oder die geraden Stäbchen ändern vor der Sporenbildung ihre Gestalt deutlich, so dass Spindel- oder Keulen-Formen entstehen, Fig. 22, E (a, b, c, d) und F (b). Die Sporen bilden sich in den Erweiterungen, Fig. 22, E (f, g), F (a, c). Die letzteren Formen wurden auch als Köpfchenbakterien oder Trommelschlägerform bezeichnet.

De Bary fasst alle Stäbchenformen mit endogenen Sporen in eine Gattung Bacillus zusammen. Eine derartige Zusammenfassung ist später immer leichter als eine Trennung. Mir scheint es vorläufig richtiger, die beiden Untergattungen zu trennen, weil dadurch eine grössere Anzahl von Formmerkmalen berücksichtigt werden kann, vor Allem aber, weil diese kleinen Formeigenthümlichkeiten, trotz mancher Unsicherheiten im Einzelfalle, im Grossen und Ganzen so regelmässig und typisch wiederkehren, dass eine gewisse Gesetzmässigkeit nicht verkannt werden kann. Besonders ist zu berücksichtigen, dass das Auftreten dieser Formen mit dem con-

stantesten Formmerkmal, der Sporenbildung, in einer nicht zu verkennenden Weise zusammenhängt. Die jetzt vorliegenden Thatsachen lassen deshalb diesen Differenzen noch einen grösseren Werth beilegen. Erst genauere und ausgedehntere Untersuchungen können definitiv entscheiden, ob die Unterschiede nicht zur Trennung genügen; zur Trennung in ganz differente Genera scheinen mir aber die Differenzen nicht auszureichen.

III. Genus Spirobakteriaceen. Die vegetativen Zellen sind Schraubenstäbchen. Die Länge schwankt nach Art und Entwicklungsstadium, so dass die kleinsten Theilungsprodukte nicht immer sicher von Stäbchen oder ellipsoiden Zellen zu unterscheiden sind und bei den längeren Gliedern eine Unterscheidung von einfach gekrümmten Stäbchen nicht immer leicht ist. Vielleicht können auch diese schraubigen Stäbchen sich in der angedeuteten Weise bisweilen in Gonidin oder Kokken gliedern. Die Stäbchen bilden schraubige Fäden, welche besonders nach dem Stadium der Entwicklung und den Aussenbedingungen bald als starre, bald als flexile Schrauben erscheinen, welche bald eng, bald weit gewunden sind. Die Schraubenstäbchen und die schraubigen Fäden können Schwärme bilden, welche bisweilen zu Zoogloea vergallerten.

Die Sporen bilden sich in den isolirten oder zu Fäden verbundenen Zellen.

Untergattungen.

1) Vibrio. Die Schraubenstäbchen ändern vor der Sporenbildung ihre Gestalt, Fig. 22, G (a bis c), und die Spore bildet sich in der Erweiterung (d).

2) Spirillum. Die einzelnen Schraubenstäbchen und in Folge dessen auch der schraubige Faden ändern bei der Sporenbildung die Form nicht, Fig. 22, H.

Die Motive zur Trennung in zwei Untergattungen sind im Princip dieselben wie die für die einstweilige Trennung von Bacillus und Clostridium und liegen wesentlich in unserer ungenügenden Kenntniss. Sollten die Differenzen später sich als ungenügend zur Trennung in zwei Untergattungen herausstellen, so würden dieselben nach van Tieghem und de Bary in einer Gattung Spirillum jeder Zeit leicht vereinigt werden können.

B. Bakterien mit Bildung von Arthrosporen incl. der Bakterien, deren Fructification unbekannt ist.

I. Gattung. Arthro-Kokkaceen. Die vegetativen Zellen werden durch Kokkenformen gebildet.

Untergattungen.

1) Arthro-Streptokokkus. Die Zellen bilden Ketten. Bei dieser Form wiederholen sich die unter Streptokokkus schon angeführten Schwierigkeiten. Es ist einstweilen wahrscheinlicher, dass Streptokokkus, Arthro-Streptokokkus und vielleicht selbst Leuconostoc nur eine natürliche Gattung Streptokokkus bilden. Aber die Möglichkeit muss offen gehalten werden, dass sich unter den Kettenkokken verschiedenwerthige Gruppen finden. Deshalb ist als weitere Untergattung vorläufig

2) Leuconostoc noch aufzuführen, Fig. 23, G, welche sich nur durch die froschlaichähnliche enorme Zoogloea von den übrigen Kettenkokken unterscheidet. Die Formen der vegetativen Einzelzellen sind entschiedene Kokkenformen und einzelne vor der Theilung etwas länger gestreckte Zellen ändern daran gar nichts.

3) Merista. Die Zellen bleiben derart in näherem Zusammenhang, dass 4 in einer Fläche angeordnete Einzelzellen, ein Tetrade, das Höhestadium darstellen, Fig. 1, C, Fig. 17, A, e; B, c, d. Daneben finden sich Einzelzellen, Doppelkokken und kleine Ketten. Beim Zerfall der flächenförmig angeordneten Tetraden, Fig. 20, A, können sich unregelmässige Gruppen von Kokken bilden.

4) Sarcina. Durch Theilung nach den 3 Richtungen des Raumes entstehen als Höhestadien Packete von 8 Zellen, Fig. 17, B, f, Fig. 20, B, c, welche bei bestimmter Entwicklung wie waarenballenähnlich eingeschnürte Körper, Fig. 20, B, d und e, erscheinen. Bei der Entwicklung zu diesen Ballen nehmen die Tetraden häufig die Form Fig. 1, D, Fig. 17, B, e, Fig. 20, B, b an, so dass bei fehlenden Packeten das auffallend häufige Auftreten dieser Form der Tetrade den Verdacht rege hält, dass es sich um eine Sarcina und nicht um eine Merista handelt. Ausser Tetraden gehören in die Entwicklung der Sarcina auch einfache und Doppelkokken, Fig. 17, B; Ketten sind bisher bei ächter Sarcina noch nicht gefunden worden

Beim Zerfall der Packete kommt es zu unregelmässigen Anhäufungen von Kokken.

5) Mikrokokkus. Die Kokken sind in der Zoogloea unregelmässig, in Haufen angeordnet, Fig. 17, C.

Die Aufstellung einer Untergattung

6) Askokokkus scheint mir nach unseren Kenntnissen nicht sonderlich gerechtfertigt. Die Anordnung der Kokken in der schlauchförmigen Zoogloea, Fig. 11 A, bietet nichts anderes, als bei der Untergattung Mikrokokkus, und die eigenthümliche Zoogloea ist hier so gut und so schlecht als Gattungsmerkmal brauchbar, wie bei anderen Zoogloeen.

Eine Abgrenzung in ganz differente Gattungen ist bei dem Vorhandensein von Uebergangsformen schwer durchzuführen. Dagegen genügen die Abweichungen zur Unterscheidung in Untergattungen. Bei dieser weniger schroffen Abgrenzung ist eine Vereinigung, welche durch genauere Kenntnisse etwa nöthig werden sollte, leichter durchzuführen.

II. Gattung. — Arthro-Bakteriaceen. Die vegetativen Zellen gehören der Stäbchenform an. Die Verbindung der Einzelzellen liefert kürzere oder längere Fäden, deren Fragmente in der Zoogloea bald regelmässiger, bald unregelmässiger angeordnet sind. Bei einzelnen Arten sind kuglige Glieder als Arthrosporen aufzufassen, während bei anderen die Möglichkeit offen zu halten ist, dass noch endogene Sporen gefunden werden und die Arten zu den Bacillen oder Clostridien gehören. Die hierher gehörigen Arten sind zum grössten Theil ungenügend untersucht. Die Aufstellung von Gattungen ist deshalb nur als ein Compromiss zwischen dürftigem Wissen und allgemeinen morphologischen Erwägungen aufzufassen, mit der Reserve, dass später vielleicht eine einzige Gattung alle diese Formen umfasst und dass andere einstweilen hierher gerechnete Arten später anderweitig untergebracht werden müssen. Ich unterscheide die Untergattungen:

1) Arthro-Bakterium oder Bakterium s. str. Die Einzelstäbchen bilden Fäden, welche gerade oder wellig gebogen sind. Es findet keine Bildung endogener Sporen statt oder dieselbe

ist bis jetzt unbekannt. Dies ist der einzige durchgreifende Unterschied gegen Bacillus und Clostridium.

2) Spirulina (Proteus). Die Fäden können gerade, wellig gebogen und schraubig gewunden sein.

III. Gattung. — Arthro-Spirobakteriaceen. Die vegetativen Zellen sind schraubige Stäbchen und die Fäden Schrauben, ebenso wie bei Vibrio und Spirillum. Der Unterschied liegt nur in dem Nachweise von Arthrosporen oder dem fehlenden Nachweise von endogenen Sporen.

Untergattung: Spirochaeta.

Wenn vorläufig der Name Vibrio nicht für endospore Arten reservirt werden müsste, wäre es vielleicht bequemer gewesen diesen Namen für die Gattung zu wählen. Zur Gattung Spirochaeta gehören die bis jetzt bekannten Kommabacillen; die Spirochaeten des Rückfallfiebers, Fig. 14 II f, zeigen in den schraubigen Fäden die auffallendste Uebereinstimmung mit den schraubigen Fäden der sogenannten Kommabacillen g; selbst die vielleicht mit der Fructification, der Bildung von Arthrosporen zusammenhängenden kugligen Gebilde im Verlaufe der Schrauben sind bei beiden Arten bekannt.

Zu den Arthrosporen-Bakterien gehören ferner noch folgende Gruppen:

IV. Leptotricheen. Das vegetative Stadium ist durch Stäbchenformen gebildet. Die Fäden können gerade, wellig gebogen und schraubig gewunden sein und zeigen bisweilen dadurch, dass das eine Ende sich festsetzt, einen Gegensatz von Basis und Spitze. Bei der Gliederung der Stäbchen entstehen kuglige Glieder, welche zum Theil sicher als Arthrosporen aufzufassen sind.

1. Gattung. Leptothrix von Zopf unterscheidet sich von den Arthro-Bakteriaceen nur dadurch, dass die Fäden durch Festsetzen bisweilen einen Gegensatz von Basis und Spitze zeigen. Ich vermag bis jetzt keinen scharfen Unterschied zwischen diesen Gattungen zu erkennen und halte die Möglichkeit offen, dass diese Gattungen Bakterium, Spirulina und Leptothrix vielleicht später in eine einzige natürliche Gattung Arthro-Bakterium vereinigt werden können.

2. Gattung. Crenothrix. Die Fäden zeigen Scheidenbildung; in den Scheiden können sich Eisensalze ablagern; die Arthrosporen sind vielleicht schwärmfähig.

3. Gattung. Beggiatoa. Die Fäden ohne Scheide. Die Zellen können bei der Reduction von Sulfaten Schwefelkörner in sich ablagern.

4. Gattung. Phragmidiothrix ist noch von zweifelhafter Zugehörigkeit zu den Bakterien. Die Fäden sind in niedrige Cylinderscheiben gegliedert, welche sich in Halbscheiben, Scheibenquadranten und schliesslich in Kugeln gliedern.

V. Cladotricheen. Die vegetativen Zellen gehören den Stäbchenformen an. Die Fäden mit Scheiden können gerade, wellig oder schraubig sein und zeigen Verzweigung, Fig. 5.

Gattung: Cladothrix.

Wenn auch die von Cohn zuerst erkannte Differenz zwischen endogenen Sporen und Gonidien bei der Eintheilung der Bakterien von de Bary und mir als wesentlichstes Merkmal hingestellt wurde, so ist doch andererseits damit zu rechnen, dass die Fructification bei sehr vielen Bakterien noch unbekannt ist, so dass bei der ersten Bestimmung wohl immer nach Formmerkmalen verfahren werden muss. In dieser Hinsicht bleiben die Formen der Einzelzellen und ihre freien oder in Zoogloea vereinigten Verbände das Wichstigste und erst wenn auf diese Weise die erste Erkennung eingetreten ist, kann auf Grund der genauen Ermittelung der Sporenbildung die definitive Zuweisung zu einer bestimmten Gattung erfolgen. Hat man z. B. Stäbchen und Fäden ohne Scheiden beobachtet, so ist es unsicher, ob es sich um die Gattungen Bakterium, Bacillus oder Clostridium handelt. Ermittelt man keine Sporenbildung, so handelt es sich um Bakterium, findet man ohne Formveränderungen der Zellen endogene Sporen, dann, aber auch erst dann hat man ein Recht, die Stäbchenbakterien Bacillus zu nennen. Findet man schraubige Stäbchen und Fäden, so bleibt zunächst die Wahl zwischen Spirillum, Vibrio oder Spirochaeta. Der Nachweis von endogenen Sporen ohne Veränderung der Schraubenform weist die Formen den Spirillen zu, während bei Fehlen oder nicht gelingendem Nachweis von endogenen Sporen vorläufig die Diagnose Spirochaeta zu lauten hätte.

- **Kokkenformen**
  - in Ketten angeordnet,
    - Zoogloea, mässig; Streptokokkus
      - Sporen endogen? . . . . Streptokokkus?
      - Arthrosporen oder Sporen unbekannt . . . . Arthro-Streptokokkus.
    - Zoogloea sehr stark . . . . Leuconostoc.
  - zu 4 angeordnet
    - daneben kleine Ketten . . . . Merista.
    - daneben keine Ketten } . . . . Sarcina.
  - zu 8 angeordnet. . . . . } . . . . Sarcina.
  - unregelmässige Haufen
    - Zoogloea unbestimmt . . . . Mikrokokkus.
    - Zoogloea in Kugeln gegliedert . . . . . Askokokkus.
- **Stäbchenformen**
  - kleinere oder längere Fäden, ohne Gegensatz von Basis und Spitze; Fäden flexil oder starr
    - Fäden gerade oder wellig, keine endogenen Sporen . . . . Arthro-Bakterium.
    - Fäden gerade. wellig oder schraubig, keine endogenen Sporen . . . . Spirulina.
    - Fäden gerade oder wellig, Sporen endogen
      - ohne Veränderung der Zelle . . . . . Bacillus.
      - mit Veränderung der Zelle, Spindelstäbchen . . . . . Clostridium.
  - Fäden mit Gegensatz von Basis und Spitze
    - Fäden ohne Scheide
      - ohne Einlagerungen von Schwefel Leptothrix.
      - mit Einlagerungen von Schwefelkörnern . . . Beggiatoa.
    - Fäden mit Scheide
      - unverzweigt . . . . . . Crenothrix.
      - verzweigt . . . . . . Cladothrix.
- **Schraubenstäbchen**
  - schraubige Fäden, flexil oder starr
    - Bildung von Arthrosporen oder unbekannte Fructification . . . . Spirochaeta.
    - endogene Sporen
      - mit Aenderung der Form . . . . Vibrio.
      - ohne Aenderung der Form . . . . Spirillum.

Die ontogenetischen Beziehungen der Bakterien sind noch so unklar, dass es jetzt noch gar nicht möglich ist, gegen jeden Einwand gesicherte natürliche Gattungen abzugrenzen. Der Eine wird unter einer Gattung viele Formen und Arten zusammenfassen, die ein Anderer noch in viele Gattungen getrennt wissen will. Mein vermittelnder Vorschlag sucht nur auf dem von Cohn, van Tieghem und de Bary betretenen Wege einen weiteren Schritt zu ermöglichen und die gegenseitige Verständigung zu erleichtern

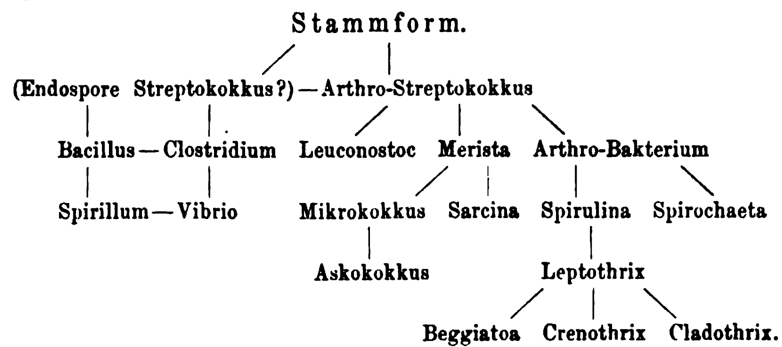
Deshalb war ich genöthigt, entgegen dem Usus, alle Schwächen meiner Eintheilung selbst darzulegen, um möglichst gegen Missverständnisse geschützt zu sein.

XII.

Phylogenetische Beziehungen der Bakterien.

Wie ganz anders müssen sich bei derartiger Sachlage die Versuche gestalten, etwa die phylogenetischen Beziehungen der Bakterien klarzustellen. Während bei ausschliesslicher Berücksichtigung der Wuchsformen die Bakterien sämmtlich auf einen einheitlichen Ursprung hinweisen, wird dies sofort anders, wenn man die Fructification berücksichtigt.

Die endosporen Bakterien sind sicher nahe verwandt mit den arthrosporen Arten, aber bis jetzt fehlt das vermittelnde Glied. Enthält vielleicht die Gattung Streptokokkus in dem oben von mir erläuterten Sinne endospore und arthrospore Arten oder stammen die beiden Reihen von einer ausgestorbenen Stammform? In diesem Falle liessen sich durch folgenden Stammbaum die etwaigen Beziehungen der durch die Fructification jetzt noch scharf geschiedenen Gruppen darstellen.



Dass die Bakterien die nächsten Beziehungen zu Spaltalgen besitzen haben Perty 1852 und Cohn 1853 gezeigt, indem sie besonders die Fadenbakterien mit den Oscillarien für nahe verwandt

hielten. Besonders Zopf hat diesen Nachweis so gesichert, dass, ganz abgesehen von den chlorophyllführenden Arten, jede morphologische Beziehung zu ächten Pilzen zurückgewiesen werden muss.

So lange man nur die Wuchsformen kannte, hielt es, wie Cohn dies dargelegt hat, nicht schwer für jede Formgattung der Bakterien eine verwandte Formgattung der Spaltalgen zu finden. An Mikrokokkus schliessen sich die Chrookokkaceen an, und unter diesen Merista und Sarcina am engsten an die Formgattung Merismopedia. Die Fadenbakterien gehören zu den Oscillaria; Spirochaeta zur früheren Formgattung Spirulina. Auf diese Weise hatte, wie schon S. 34 erwähnt, Cohn die einzelnen Formgattungen der Bakterien mit den Spaltalgen, welche ähnliche Verbände der Einzelzellen zeigen, in nähere Beziehungen gestellt als zu anderen Formgattungen der Spaltalgen. Diese Formähnlichkeit genügt aber nicht sicher zur Ermittelung der natürlichen Verwandtschaftsverhältnisse, nachdem sich einerseits herausgestellt hat, dass die Fadenbakterien auch Zoogloea bilden können und nachdem besonders Zopf ermittelt hat, dass die nicht fädigen, Zoogloea-bildenden Spaltalgen, die Chrookokkaceen den fädigen, den Nostochineen, näher stehen. Speciell hatte Zopf gefunden, dass viele fädige Spaltalgen Chrookokkaceen-ähnliche Entwicklungszustände durchmachen können und bei Tolypothrix fand er Entwicklungsformen, welche morphologisch von der Formgattung Nostoc nicht zu unterscheiden waren.

Nach derartigen Ermittelungen wird man wohl die Beziehungen der Bakterien zu den Spaltalgen nicht mehr ausschliesslich nach der Form einzelner besonders auffälliger Entwicklungsstadien durchführen dürfen. Man wird im Allgemeinen noch Leuconostoc an Nostoc, Sarcina an Merismopedia, Mikrokokkus und Askokokkus an Chrookokkaceengattungen im bisherigen Sinne anknüpfen können, ohne damit aber sicher natürliche Verwandtschaftsbeziehungen ermittelt zu haben. Dagegen scheinen die Beziehungen von Beggiatoa zu Oscillaria, von Crenothrix zu Chamaesiphon, von Cladothrix zu Tolypothrix unter den Spaltalgen wirkliche phylogenetische zu sein.

Die sicher endosporen Arten lassen sich mit keiner Gattung der Spaltalgen direct in Beziehung stellen, sondern sie nehmen sich wie eine nicht weiter entwickelte Seitenkette aus. Die endogene

Spore findet nur ein Analogon in den Cysten einiger Flagellaten, wie Spumella und Chromulina. Auf der anderen Seite ist es auffallend, wie ähnlich besonders die Monasformen manchen anderen Flagellaten sind. Hiernach ergeben sich, wie schon Bütschli und de Bary angedeutet haben, noch folgende Möglichkeiten über die Abstammung der Bakterien und ihrer beiden Hauptgruppen.

Flagellata < endospore Bakterien,
arthrospore Bakterien — Spaltalgen,

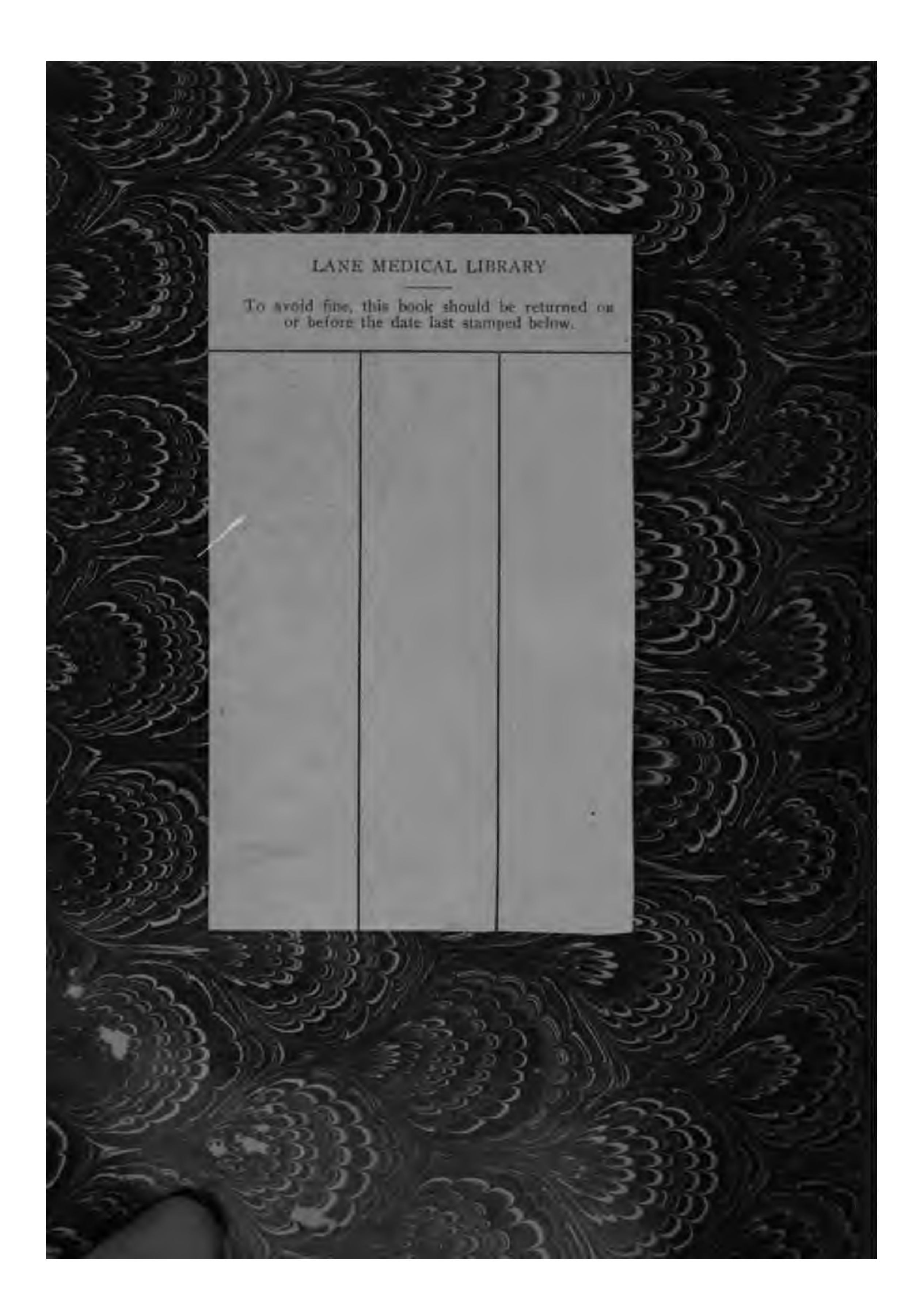
oder Flagellata — unbekannte Stammform < endospore Bakterien,
arthrospore Bakterien,

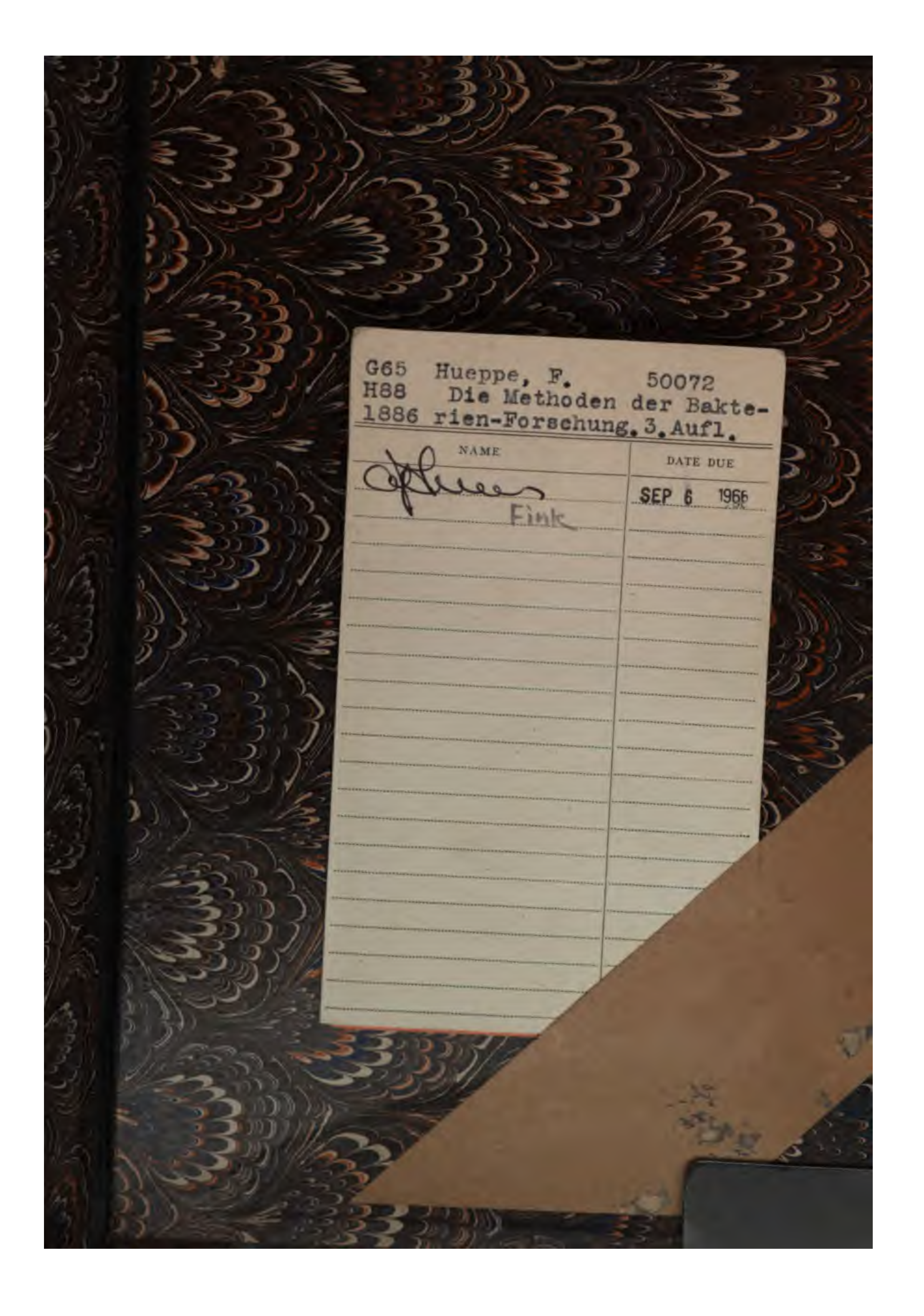
oder Flagellata-Streptokokkus < endospore Streptokokkus — endospore Bakterien,
Arthro-Streptokokkus — arthrospore Bakterien.

Eine weitere Frage phylogenetischer Art, welche sich hier anschliesst, betrifft die Beziehungen der Algen zu den Spaltalgen. In dieser Hinsicht genügt wohl die Andeutung, dass es durchaus noch nicht genügend motivirt ist, dass die Spaltalgen direct zu den Algen hinüberleiten, derart, dass die Bakterien die niedrigste Abtheilung dieser Reihe des Pflanzenreiches bilden. Es ist recht wohl möglich, dass die Algen sich neben den Bakterien und Spaltalgen aus unbekannten Stammformen entwickelt haben, von denen die Spaltalgen einen abgeschlossenen Seitenzweig bilden, während die Algen die Hauptreihe des Pflanzenreiches einleiten.

Derartige Erwägungen, welche nur unter vollster Kenntniss aller Wuchsformen und der Entwicklungsgeschichte überhaupt discutirbar sind, zeigen wohl zweifellos, dass mit schroffer und einseitiger Stellungnahme nichts Brauchbares auf dem Gebiete der Morphologie der Bakterien zu leisten ist. Wohl aber ist eine unbefangene Beurtheilung möglich, wenn man einerseits mit de Bary und mir den Hauptwerth im Anschlusse an die grundlegenden Arbeiten von Cohn, Prazmowski und van Tieghem auf die Fructification legt und andererseits als gleichwerthig die Gesammtheit aller Wuchsformen, im Anschlusse an die älteren Desiderate von Cohn, berücksichtigt. Einstweilen ist es noch nicht möglich immer zur Aufstellung von natürlichen Gattungen und Arten zu gelangen und unser jetziges Wissen zwingt uns noch oft genug, nur um überhaupt Klarheit zu gewinnen, provisorisch, wenn auch

in beschränktem Maasse, Formgattungen und Formarten aufzustellen. Die praktischen Aufgaben der Bakteriologie für Pathologie, Hygiene und Physiologie werden im Grossen und Ganzen durch diese Unsicherheiten wenig alterirt, aber die richtige morphologische Lösung entscheidet oft mit einem Schlage eine strittige Frage, so dass eine genauere Kenntniss der Morphologie und der durch dieselbe zu lösenden Aufgaben auch für Physiologie und Pathologie oft von grösserem Werthe ist, als der Praktiker im Allgemeinen geneigt ist dieser vorwiegend botanischen Seite der Forschung zu widmen.


LANE MEDICAL LIBRARY
To avoid fine, this book should be returned on or before the date last stamped below.


G65 Hueppe, F. 50072
H88 Die Methoden der Bakte-
1886 rien-Forschung. 3. Aufl.
NAME
DATE DUE
Fink
SEP 6 1966

